

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DİABETİK ANNE BEBEKLERİNDE SERUM PARAOKSONAZ**  
**AKTİVİTESİ VE TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN KAPASİTENİN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Süleyman GETER**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK**

**ŞANLIURFA**

**2014**

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DİABETİK ANNE BEBEKLERİNDE SERUM PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ VE  
TOTAL OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Süleyman GETER**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK**

Bu tez Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21.06.2012 tarih ve 12080 proje numarasıyla desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA**

**2014**

## TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların planlanması ve yürütülmesi esnasında destek ve yardımlarını gördüğüm değerli tez hocam Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. C.Dost ZEYREK'e, Prof. Dr. Ahmet KOÇ, Prof. Dr. Akın İŞCAN, Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK, Doç. Dr. Ali AYÇİÇEK, Doç. Dr. Ali ATAŞ, Doç. Dr. Kabil SHERMATOV, Yrd. Doç. Dr. Mahmut ABUHANDAN, Yrd Doç.Dr. Yeşim OYMAK'a, Doç.Dr. Mustafa ÇALIK'a, Yrd. Doç. Dr. Erdal EREN'e ve Doç. Dr. Bülent KOCA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımdaki yardım ve desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki sevgili hocam Prof. Dr. Nurten AKSOY, Doç. Dr. Şahbettin SELEK, Araş. Gör. Dr. Selçuk AKIN, Biyolog Abdullah TAŞKIN ve laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına gönülden teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim süresince klinikteki çalışmalarım ve tezimde yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, sıkıntılı ve güzel günleri paylaştığım değerli dostum Dr. Ersin KESKİN'e, değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline ayrıca teşekkür ederim.

Son olarak bugünlere gelmemde emeği olan anneme ve babama, sadece asistanlık eğitimimde değil hayatımın her anında beni yalnız bırakmayan, hiçbir konuda desteğini benden esirgemeyen ve bana uygun çalışma ortamı sağlayan eşim Sevgi Özgür'e ve onu her gördüğümde bütün dert ve kederlerimi unutturan içimin gülen yüzü; Oğlum Mir Dijvar'a sevgilerimle.....

Dr. Süleyman GETER

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA NO

<b>TEŞEKKÜR</b>	I
<b>İÇİNDEKİLER</b>	II
<b>TABLO LİSTESİ</b>	V
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	VI
<b>KISALTMALAR</b>	VII
<b>ÖZET</b>	X
<b>SUMMARY</b>	XII
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
<b>2.1. Diabetes Mellitus</b>	3
<b>2.1.1. Tip 1 DM</b>	5
<b>2.1.2. Tip 2 DM</b>	5
<b>2.1.3. Gestasyonel Diabetes mellitus ( GDM )</b>	6
<b>2.1.4. Gebelikte Diabet Tanısı</b>	7
<b>2.1.5. Tarama</b>	7
<b>2.1.6. Tanı</b>	9
<b>2.1.7. Diabetik Anne Bebeği</b>	10
<b>2.1.8. Diabetik Anne Bebeğinin Sorunları</b>	11
<b>2.1.9. Diabetik Anne Bebeklerinde Klinik Bulgular ve Metabolik Bozukluklar</b>	12
<b>2.1.9.1. Respiratuvar distres</b>	13
<b>2.1.9.2. Yapısal Kardiyak Malformasyonlar</b>	14
<b>2.1.9.3. Konjenital Anomaliler</b>	15
<b>2.1.9.4. Hematolojik bulgular</b>	16
<b>2.1.9.5. Hipokalsemi-hipomagnezemi</b>	17
<b>2.1.9.6. Hipoglisemi</b>	17
<b>2.1.10. Diabetik Anne Bebeğine Yaklaşım</b>	18
<b>2.2. Paraoksonaz</b>	19
<b>2.2.1. Tarihçe</b>	19
<b>2.2.2. Paraoksonaz Gen Ailesi</b>	20
<b>2.2.3. PON1</b>	20
<b>2.2.3.1. PON1 Gen Polimorfizmi</b>	20

<b>2.2.3.2.</b> PON1'in Yapısı	21
<b>2.2.4.</b> PON2	23
<b>2.2.5.</b> PON3	24
<b>2.2.3.3.</b> PON 1'in Substratları	25
<b>2.2.3.4.</b> PON1'İN Fizyolojik Fonksiyonu	26
<b>2.2.3.5.</b> PON1'in Sentezi	28
<b>2.2.3.6.</b> PON1'in Hücrelerden Salınımı	28
<b>2.2.3.7.</b> PON1 ve HDL	29
<b>2.2.3.8.</b> PON1'in HDL'ye Bağlanması	29
<b>2.2.6.</b> Hidrolitik aktivite; Organofosfatlara karşı koruma	30
<b>2.2.7.</b> Lipopolisakkarid inaktivasyonu; Bakteriyel endotoksinlere karşı Koruma	33
<b>2.2.8.</b> Oksidatif veya Peroksidatif aktivite; LDL oksidasyonunun önlenmesi	34
<b>2.2.9.</b> PON1' in Ox-LDL ile Etkileşimi	34
<b>2.2.10.</b> PON1 ve Çevresel Faktörler	36
<b>2.2.11.</b> Çeşitli Hastalıklarda PON1	36
<b>2.2.12.</b> Arterioskleroz nedir?	38
<b>2.2.13.</b> Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL)	40
<b>2.2.13.</b> Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL)	41
<b>2.2.14.</b> Arterioskleroz ve Paraoksonaz arasındaki ilişki nedir ?	42
<b>2.2.15.</b> PON1 ve Oksidatif Stres	44
<b>2.2.16.</b> Diyabet ve Oksidatif Stres	44
<b>2.3.</b> Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi	46
<b>2.3.1.</b> Serbest Radikaller	47
<b>2.3.2.</b> Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ )	48
<b>2.3.3.</b> Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )	48
<b>2.3.4.</b> Hidroksil Radikali ( $HO^\cdot$ )	49
<b>2.3.5.</b> Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	49
<b>2.3.5.1.</b> Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)	50
<b>2.3.5.2.</b> Proteinlere Etkisi	51
<b>2.3.5.3.</b> Nükleik asitlere Etkileri	51
<b>2.3.5.4.</b> Karbonhidratlara Etkileri	52
<b>2.3.6.</b> Antioksidan Mekanizmalar	52

2.3.6.1. Enzim Olan Antioksidanlar	53
2.3.6.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	53
2.3.6.1.2. Katalaz	53
2.3.6.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	54
2.3.6.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)	55
2.3.6.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR)	55
2.3.6.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	55
2.3.6.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	55
2.3.6.2.1. Glutatyon (GSH)	55
2.3.6.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)	56
2.3.6.2.3. Vitamin E (Tokoferol)	57
2.3.6.2.4. $\beta$ Karoten	57
2.3.6.2.5. Seruloplazmin	57
2.3.7. Total Antioksidan Kapasite	57
2.3.8. Oksidatif Stres	58
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	59
3.1. Yöntem	60
3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TAS)	60
3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TOS)	60
3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ)	61
3.1.4. Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü	61
3.1.5. Arilesteraz Aktivitesinin Ölçümü	62
3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler	63
<b>4. BULGULAR</b>	64
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	77
<b>6. KAYNAKLAR</b>	82

**TABLO LİSTESİ****SAYFA NO**

<b>Tablo 1.</b> Diabetes mellitusun etyolojik sınıflandırması	4
<b>Tablo 2.</b> Tip 1 ve Tip 2 diabetes mellitusun bazı özellikleri	6
<b>Tablo 3.</b> Gestasyonel Diyabet Taraması İçin Risk Değerlendirmesi	8
<b>Tablo 4.</b> 100 g OGTT tanı kriterleri	10
<b>Tablo 5.</b> Diabetik anne çocuklarında sık karşılaşılan sorunlar	11
<b>Tablo 6.</b> Epidemiyolojik risk faktörleri	40
<b>Tablo 7.</b> Oksijen türevi bileşikler	48
<b>Tablo 8.</b> Hasta ve kontrol grubu ile annelerinin demografik ve karakteristik bilgileri	65
<b>Tablo 9.</b> Hasta ve Kontrol gruplarının Oksidatif Stres, PON, Arilesteraz, Trigliserid, Kolesterol, HDL, LDL ve VLDL düzeyleri	66

## ŞEKİLLERİN DİZİNİ

## SAYFA NO

Şekil 1. PON1 geninin polimorfik bölgeleri	21
Şekil 2. İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin Yapısı	22
Şekil 3. Paraoksonazın Paraoksonu hidrolizi	25
Şekil 4. Paraoksonazın Fenil Asetatı hidrolizi	25
Şekil 5. Hücre membranında bulunan PON1'in HDL'ye transferi	29
Şekil 6. PON1'in HDL'ye bağlanması	30
Şekil 7. OP bileşiği genel formulu	31
Şekil 8. Sınır gazlarının hidrolizi	32
Şekil 9. Organofosforus İnsektisitlerin detoksifikasyonu	32
Şekil 10. Aromatik esterlerin hidrolizi	32
Şekil 11. Oksidatif stres altında plazma LDL ve monositlerin arterial duvarda birikmesi ve monositlerin makrofajlara farklılaşması.	35
Şekil 12. Arterioskleroz	39
Şekil 13. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları	50
Şekil 14. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu PON1 değerleri	67
Şekil 15. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu AREST değerleri	68
Şekil 16. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu TAS değerleri	69
Şekil 17. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu TOS değerleri	70
Şekil 18. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu OSİ değerleri	71
Şekil 19. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu TG değerleri	72
Şekil 20. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu CHOL değerleri	73
Şekil 21. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu HDL değerleri	74
Şekil 22. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu LDL değerleri	75
Şekil 23. Diabetik Anne Bebeği ve kontrol grubu VLDL değerleri	76



## KISALTMALAR

<b>DM</b>	: Diyabetes mellitus
<b>DAB</b>	: Diyabetik anne bebeği
<b>GDM</b>	: Gestasyonel diabetes mellitus
<b>HbA1c</b>	: Hemoglobin A1c
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>ACOG</b>	: American College of Obstetricians and Gynecologists
<b>ADA</b>	: American Diabetes Association
<b>SGA</b>	: Small for gestational age
<b>GH</b>	: Growth hormon
<b>GK</b>	: Glukokortikoidler
<b>IGF</b>	: İnsülin like growth factor
<b>LGA</b>	: Large for gestational age
<b>RDS</b>	: Respiratuvar distres sendromu
<b>L/S</b>	: Lesitin/sfingomyelin
<b>PG</b>	: Fosfatidilgliserol
<b>SP-A</b>	: Surfactan associated protein
<b>PGI<sub>2</sub></b>	: Prostoglandin I <sub>2</sub>
<b>PON</b>	: Paraoksonaz
<b>AREST</b>	: Arilesteraz
<b>HDL-K</b>	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
<b>LDL-K</b>	: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
<b>Ox-LDL</b>	: Okside düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>ark.</b>	: Arkadaşları
<b>M</b>	: Metionin
<b>L</b>	: Lösinin
<b>Apo A1</b>	: Apolipoprotein A1
<b>Apo J</b>	: Klusterin
<b>A/G</b>	: Alanin/Glisin
<b>C/S</b>	: Sistein/Serin
<b>PAF-AH</b>	: Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz
<b>MM-LDL</b>	: Minimal Modifiye LDL
<b>SR-B1</b>	: Scavenger reseptör B1

<b>OP</b>	: Organo fosfat
<b>AChE</b>	: Asetilkolinesteraz
<b>TLF</b>	: Tripanolitik faktor
<b>IL1<math>\alpha</math></b>	: İnterlökin alfa
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türü
<b>KAH</b>	: Koroner arter hastalığı
<b>AH</b>	: Alzheimer Hastalığı
<b>TG</b>	: Trigliserid
<b>CHOL</b>	: Kolesterol
<b>VLDL</b>	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>IDL</b>	: Ara yoğunluklu lipoprotein
<b>LCAT</b>	: Lesitin kolesterol açıl transferaz
<b>MI</b>	: Miyokard infarktüsü
<b>8-OHdG</b>	: 8-hidroksi deoksiguanozin
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>TOS</b>	: Total oksidan seviyesi
<b>TAS</b>	: Total antioksidan seviyesi
<b>OSİ</b>	: Oksidatif stres indeksi
<b>HO<math>\cdot</math></b>	: Hidroksil
<b>RO<math>\cdot</math></b>	: Alkoksil
<b>ROO<math>\cdot</math></b>	: Peroksil
<b>O<math>_2</math><math>\cdot^-</math></b>	: Süperoksit Redikali
<b>NO<math>_2</math></b>	: Azot dioksit
<b>H<math>_2</math>O<math>_2</math></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>O<math>_2</math><math>\uparrow\downarrow</math></b>	: Singlet Oksijen
<b>O<math>_3</math></b>	: Ozon
<b>HOCl</b>	: Hipoklorid
<b>LOOH</b>	: Lipidhidroperoksit
<b>ONOO<math>\cdot^-</math></b>	: Peroksinitrit
<b>GR</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz

<b>GST</b>	: Glutasyon S Transferaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>GST</b>	: Glutasyon-S-transferaz
<b>OS</b>	: Oksidatif Stres
<b>RAGE</b>	: İleri reseptör glikasyon ürünleri
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen Radikali
<b>R1</b>	: Reaktif 1
<b>İ.V.</b>	: İntravenöz
<b>İUBG</b>	: İntrauterin büyüme ve gelişme geriliği
<b>C/S</b>	: Sezeryan
<b>NSVY</b>	: Normal spontan vaginal yol

## ÖZET

# DİABETİK ANNE BEBEKLERİNDE SERUM PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ VE TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Dr.Süleyman GETER**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi**

**Amaç:** Bu çalışmada diyabetik anne bebeklerinde (DAB) ateroskleroz oluşma riskini gösteren Paraoksonaz aktivitesi ile diyabetik anne bebeklerinde Total Oksidan ve Antioksidan Kapasitelerinin Değerlendirilmesi ve aralarındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Diyabetik anne bebeklerinde; makrozomi ve ona bağlı doğum travmaları, respiratuvar distres sendromu, geçici taşipne, hipertrofik kardiyomyopati, hiperbilirubinemi, polisitemi, renal ven trombozu, konjenital anomalilerin yanı sıra hipoglisemi, hipokalsemi ve hipomagnezemi gibi metabolik bozukluklar görülmektedir.

Paraoksonaz-1 (PON1) 354 aminoasitten oluşan bir proteindir. PON1 sentez yeri karaciğer olup arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan kalsiyum bağımlı, antioksidan fonksiyona sahip olduğu düşünülen bir enzimdir. PON1 serumda yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) üzerinde lokalizedir. Serum HDL-K konsantrasyonu aterosklerotik risk ile negatif yönde ilişkilidir. Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K)'ün oksidatif değişikliklere uğraması aterosklerozun başlangıç ve ilerleme aşamasında temel rol oynamaktadır. Son çalışmalar farklı mekanizmalar gösterebilir HDL-K, LDL-K'yı oksidatif değişikliklere karşı korumaktadır. Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolün bu antioksidan aktivitesi primer olarak PON1 ile ilişkili bulunmuştur. Buna lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT)'da katkıda bulunmaktadır.

Oksidatif stres basit bir şekilde , vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmaya 58 Diabetik Anne bebeği tanısı alan hastalar ile kontrol gurubu için 45 normal sağlıklı annenin sağlıklı bebekleri çalışmaya alındı Tetkikler için periferik venöz kan ilk 72 saat içinde alınıp, ayrılan serumunda TAS, TOS ve oksidatif durum Erel metodu ile çalışıldı. Paraoksonaz enzim aktivitesi ölçümünde substrat olarak paraokson (0,0- diethy -0-pnitropheny phosphate), arilesteraz ölçümünde ise substrat olarak fenil asetat kullanılmıştır. Çalışmada istatistiksel analizler SPSS 11.5 programı kullanılarak yapıldı ve  $p < 0,05$  olması anlamlı olarak kabul edildi.

**Bulgular:** Diabetik Anne Bebeklerinde PON1 aktivitesi, TOS seviyeleri ve oksidatif stres indeksi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ). Serum TAS seviyelerinde ise kontrol grubuna göre anlamlı fark saptanmadı ( $p = 0,446$ ).

**Sonuç:** Diyabetik anne bebeklerinde TOS ve OSİ kontrol grubuna göre daha yüksek, Paraoksonaz aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşüktü. Diyabetik anne bebeklerinin kötü hiperglisemik kontrolü sonucunda oksidatif stresin artması, paraoksonaz aktivitesinin düşük olmasına yol açıp ateroskleroz gelişimi açısından risk altında olduklarını düşündürmektedir. Bu sonuç diyabetik anne bebeklerinde hiperglisemik kontrolün diyabetik anne bebekleri üzerinde ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Diyabetik anne bebeği, serum paraoksonaz aktivitesi (PON1), Oksidan-Antioksidan sistem.

## SUMMARY

### EVALUATION OF SERUM PARAOXONASE ACTIVITY (PON1) AND TOTAL OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE CAPACITY IN INFANTS OF DIABETIC MOTHERS

SÜLEYMAN GETER, MD

Department of Pediatrics, Medical Specialty Thesis

**Objectives:** In this study determine the risk of atherosclerosis in infants of diabetic mothers in our region (DAB) by paraoxonase activity and Total Oxidant and Antioxidant Capacity Assessment and to investigate the relationship between them.

Macrosomia and associated delivery traumas, respiratory distress syndrome, transient tachypnea, hypertrophic cardiomyopathy, hyperbilirubinemia, polycythemia, renal vein thrombosis, congenital abnormalities as well as metabolic abnormalities including hypoglycemia, hypocalcemia and hypomagnesemia are seen in infants of diabetic mothers.

Paraoxonase-1 (PON1) is a protein consisting of 354 amino acids. PON1 is synthesized in the liver, and is a calcium dependent enzyme also termed arylalkylphosphatase that is considered to have anti-oxidative function. PON1 is localized on high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in the serum. Serum HDL-C concentration is negatively correlated with the atherosclerotic risk. Oxidative changes occurring in low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) plays the leading role in both the initiation and progression of atherosclerosis. Although recent studies have demonstrated different mechanisms, it is known that HDL-C protects LDL-C from oxidative changes. This anti-oxidative activity of high density lipoprotein cholesterol has primarily been associated with PON1. Lecitin cholesterol acyl transferase (LCAT) is also involved in this process.

Oxidative stress might be defined in simple terms as an imbalance between anti-oxidative defence system and oxidativents of the body system and oxidants.

**Materials and Methods:** In this study has admitted 58 infants of diabetic mothers and 45 healthy children as a control group. TAS, TOS and oxidative status has studied at peripheral venous blood by EREL ASSAY method using commercial available kits (Erel,

Megatıp, Gaziantep, Turkey). Paraoxonase enzyme activity measurements as the substrate paraoxon (0.0 - Diethylamino-0-pnitropheny phosphate), phenyl acetate was used as the substrate to measure the arylesterase. In this study, statistical analyzes were performed using SPSS 11.5 and  $p < 0.05$  was considered significant. Evaluation of serum paraoxonase activity (PON1) and total oxidative and anti-oxidative capacity in infants of diabetic mothers.

**Results:** Diabetic mother's baby's activity PON1, TOS levels and oxidative status index were significantly higher than those of the control group (respectively  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  ,  $p < 0,001$ ). Serum TAS levels was not different from that of the control group ( $p = 0,446$ ).

**Conclusion:** In infants of diabetic mothers TOS and OSI values were higher than the control group, paraoxonase activity was lower than the control group. As a result of the poor hyperglycemic control infants of diabetic mothers increasing oxidative stress, decreasing paraoxonase activity can lead to risk for development atherosclerosis. This results shows how important is hyperglycemic control in infants of diabetic mothers.

**Keywords:** Infants of diabetic mothers, serum paraoxonase activity (PON1), oxidative-anti-oxidative system.

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Bu çalışmada diyabetik anne bebeklerinde (DAB) ateroskleroz oluşma riskini gösteren Paraoksonaz aktivitesi ile diyabetik anne bebeklerinde Total Oksidan ve Antioksidan Kapasitelerinin Değerlendirilmesi ve aralarındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Diyabetik anne bebeklerinde; makrozomi ve ona bağlı doğum travmaları, respiratuvar distres sendromu, geçici taşipne, hipertrofik kardiyomyopati, hiperbilirubinemi, polisitemi, renal ven trombozu, konjenital anomalilerin yanı sıra hipoglisemi, hipokalsemi ve hipomagnezemi gibi metabolik bozukluklar görülmektedir (1).

Hiperglisemi ve buna bağlı olarak oluşan metabolik değişikliklerin sinir sisteminin değişik kısımlarında neden olduğu yapı ve fonksiyon bozukluğu nöropatinin oluşumundaki temel mekanizmadır (2, 3).

Paraoksonaz-1 (PON1) 354 aminoasitten oluşan bir proteindir (4). PON1 sentez yeri karaciğer olup arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan kalsiyum bağımlı, antioksidan fonksiyona sahip olduğu düşünülen bir enzimdir (5). PON1 serumda yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) üzerinde lokalizedir. Serum HDL-K konsantrasyonu aterosklerotik risk ile negatif yönde ilişkilidir (6). Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K)'ün oksidatif değişikliklere uğraması aterosklerozun başlangıç ve ilerleme aşamasında temel rol oynamaktadır (7). Son çalışmalar farklı mekanizmalar gösterebilir HDL-K, LDL-K'yı oksidatif değişikliklere karşı korumaktadır (8). HDL-K'ün bu antioksidan aktivitesi primer olarak PON1 ile ilişkili bulunmuştur. Buna lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT)'da katkıda bulunmaktadır (9). Yapılan çalışmalar PON1'in LDL-K üzerindeki okside fosfolipidleri LDL-K üzerinden uzaklaştırarak oksidasyondan koruduğunu göstermiştir (10). Yenidoğanlarda ve prematüre bebeklerde PON1 aktivitesinin yetişkindekine yaklaşık olarak yarısı kadar olduğu bildirilmiş ve doğumdan yaklaşık olarak bir yıl sonra erişkindeki düzeyine ulaştığı kaydedilmiştir (11). Serum PON1 enziminin aromatik karboksilik asid esterleri ve paraokson, diazo-okson, sarin, somon gibi organofosfat türevlerini detoksifiye ettiği önceki çalışmalarda gösterilmiştir (12). Organofosfat pestisitler ile PON1 ve ateroskleroz arasındaki bağlantı insanların çoğunda açık değildir. Organofosfat pestisitleri tarımda yaygın kullanılan sülfür türevleridir. Bu nontoksik bileşenler karaciğerde toksik oxon formuna dönüşür sonra da PON1, transferaz, monooksijenaz gibi çeşitli enzimlerle detoksifiye edilir. Memelilerde hepatik detoksifikasyondan kaçan oxon formu beyne ulaşmadan kanda serum paraoksonaz



tarafından hidrolize edilir (5). PON1'in iki aktif bölgesi olduğuna inanılır çünkü organofosfatlı insektisitlerin ve sinir ajanlarının oksijen analoglarını hidrolize eden detoksifikasyon enzimi olarak ayrıca plak formasyonunu azaltan antiaterojenik enzim olarak rolü vardır. Anti aterosjenik özellik lipoprotein partiküllerini serbest radikal oksidasyonundan koruma özelliğinden gelmektedir çünkü okside kolesterol esterlerini, fofatidilkolin çekirdekli aldehitleri hidrolize edebilir ve hidrojen peroksidi azaltabilir (13-15). PON1'in etkilediği fizyolojik substratı açık bir sorudur.

PON1'in oksidatif stresi direk–indirek azaltmasını göstermesiyle bu enzimin aterosklerozda yararlı rolü olduğu değişik otörler tarafından desteklendi (15). Apolipoprotein E/PON1 mutasyonlu farelerde apolipoprotein E mutasyonlu kontrol grubuna göre artmış lipoprotein oksidasyonu bildirildi. Ek olarak apolipoprotein E eksik farelerde kontrole göre PON1 ve izoformlarının %25-45 azalmış aktivitesi raporlandı (16). Sonraki çalışmalar DM tip1, tip2 veya hiperkolesterolemisi olan ateroskleroza yatkın bireylerde PON1 aktivitesinin azaldığı gösterildi. Sonuç olarak PON1 oksidatif sürecin inhibisyonunda sorumlu olduğu bildirilmektedir. Bu sonuçla çocuklarda PON1 aktivitesinin tespiti gelecekte aterosklerozdan korumada yararlı olabilir (17- 20).

Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (21).

Bu çalışmada diyabetik anne bebeğinde serum paraoksonaz aktivitesi ile oksidan-antioksidan sistem arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus

Diyabet ile ilgili en eski kayıtlar Milattan önce 1550'li yıllarda Mısır'da yazılmış bir papiruste bulunmuştur. Bu papiruste, şeker hastalığına benzer, çok idrara çıkma ile seyreden bir durumdan bahsedilmektedir (22).

Günümüzde tıp literatüründe kullanılan, Diabetes ve Mellitus kelimeleri Yunanca akıp gitmek anlamına gelen dia + betes ve bal kadar tatlı anlamına gelen mellitus kelimelerinden türetilmiştir. Diabetes kelimesi ilk kez Anadolu topraklarında, Kapadokya'da M.S. 2. yüzyılda Arateus tarafından kullanılmıştır. Arateus şeker hastalığını idrar miktarında artma, aşırı susama, ve kilo kaybının olduğu bir hastalık olarak tanımlamıştır (22).

DM, kronik hiperglisemi ile seyreden, insülin sekresyonu azlığı veya insülinin etkisinde azlık ve bazen de her ikisinin bozukluğundan kaynaklanan ve karakteristik olarak hiperglisemi ile seyreden metabolik bir hastalıktır. Kronik hiperglisemi, başta göz, böbrekler, sinirler, kalp ve damarlar olmak üzere birçok organda, zamanla hasara ve fonksiyon bozukluklarına yol açar (23).

DM, sınırları net olarak çizilmiş basit bir hastalık olmayıp değişik patolojik süreçler sonucu ortaya çıkan ve çok farklı etyolojik faktörler içeren kompleks bir hastalıktır. Bu nedenle hastalık zaman içinde değişik şekillerde sınıflandırılmış ve adlandırılmıştır. Son olarak 2005 yılında Amerikan Diyabet Birliği tarafından şu şekilde sınıflanmıştır (24) (Tablo 1).

**Tablo1.** Diabetes mellitusun etyolojik sınıflandırması

<p>I. Tip 1 DM (Genellikle mutlak insülin eksikliğine yol açan beta-hücre harabiyeti )</p> <p>A. İmmün kaynaklı</p> <p>B. İdiyopatik</p> <p>II. Tip 2 DM (insülin direncine bağlı relatif insülin yetmezliği veya insülin sekresyonunda defekt)</p> <p>III. Diğer spesifik tipler</p> <p>A. Beta hücre fonksiyonunda genetik bozukluklar</p> <p>B. İnsülin etkisinde genetik bozukluklar</p> <p>C. Ekzokrin pankreas hastalıkları</p> <p>D. Endokrinopatiler</p> <p>E. İlaç ve kimyasal maddelerin indüklediği diyabet</p> <p>F. İnfeksiyonlar</p> <p>G. İmmün kaynaklı diyabetin sık görülmeyen formları</p> <p>H. Diyabetin bazen eşlik ettiği diğer genetik sendromlar</p> <p>IV. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)</p>
<p>Herhangi bir tipteki diabetes mellituslu hasta, hastalığın bir döneminde insülin gereksinimi duyabilir. Bu durum hastalığın sınıflandırılmasını etkilemez.</p>

### **2.1.1. Tip 1 DM**

Daha önceleri insulin bağımlı diyabetes mellitus ve juvenil başlangıçlı diyabet olarak adlandırılan bu durum genellikle pankreas beta-hücrelerinin otoimmün harabiyeti sonucu oluşur. Hastaların yaklaşık %85-90'ında iskelet hücrelerine, insüline ve glutamik asit dekarboksilaza karşı otoantikolar saptanır. Bazı HLA tipleri tip1 diyabet için genetik yatkınlık oluşturmaktadır. Hastalık genellikle insülinin tam eksikliği ile seyreder ve insülinin dışardan yerine konulması ile tedavi edilir (25-27). Tip 1 DM her yaşta ortaya çıkabilir, ancak genellikle 30 yaşın altında başlamaktadır. Ketoasidoza bu hastalarda sık rastlanır. Genel popülasyonda görülme sıklığı %0.1-0.4 arasında değişmektedir (28).

### **2.1.2. Tip 2 DM**

Diyabetik hastaların yaklaşık %90-95'ini bu grup oluşturur (24). Anormal insulin salınımı ve hedef dokularda insulin direnci vardır. Hastaların çoğu obezdir ve obesiteye bağlı periferik insulin direncinin beta-hücre tüketimine yol açtığı düşünülmektedir. Tip 1 diyabetin aksine tip 2 diyabetikler genellikle insüline ihtiyaç duymazlar ve hastalık daha ileri yaşlarda ortaya çıkar. Aile anamnezi dikkat çekicidir. Ketoasidoza bu hastalarda sık rastlanmaz. Daha çok non-ketotik hiperosmolar koma görülür (Tablo 2'de tip1 ve tip 2 DM bazı özellikleri karşılaştırılmıştır.) (28).

**Tablo 2.** Tip 1 ve Tip 2 diabetes mellitusun bazı özellikleri (28)

Özellik	Tip1 ( insuline bağımlı )	Tip 2 ( insulinden bağımsız )
Başlangıç yaşı	Genellikle < 40	> 40
Morfolojik görünüş	Normal-Zayıf	Obez
Plazma İnsulin	Düşük-Yok	Normal – Yüksek
Akut komplikasyon	Ketoasidoz	Hiperosmolar koma
İnsulin tedavisi	Yanıt verir	Yanıt verir/ cevapsız
Sulfonüre	Cevapsız	Yanıt verir

### 2.1.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)

İlk kez gebelikte tanısı konulan ya da gebelik sırasında ortaya çıkan, herhangi bir derecedeki glikoz intoleransıdır. Bu tanımlama, kişinin insülin veya diyet tedavisi alması ile veya glikoz intoleransının gebelik sonrası devam edip etmediği ile ilişkili değildir. Yine bu tanımlama, daha önce tespit edilememiş glikoz intoleransının gebelikten önce başlamış olabileceği ihtimalini tanım dışında bırakmaz ( 23, 24, 29-31).

Tüm gebeliklerin yaklaşık %7' si GDM ile komplike olmaktadır ve bu oran farklı popülasyonlarda %1 ile %14 arasında değişmektedir (29).

GDM, genellikle ilerleyen gebelik haftalarında görüldüğü için gebeliğin ilk trimesterinde görülen diyabet, overt (aşikar) diyabet olarak kabul edilir. Diabetik annelerin % 90'ını GDM, % 10'unu pregestasyonel diyabet oluşturur (32). Pregestasyonel diyabetin de % 8'ini tip 2 diyabet, % 2'sini tip 1 diyabet oluşturur (33). Her ne kadar gestasyonel diyabet doğumdan sonra kaybolursa da GDM'li kadınların %30'u 7-10 yıl içinde diyabet veya bozulmuş glikoz intoleransı tanısı alır (34).

GDM'li anne bebeği, erken yaşlarda obezite gelişimi, bozulmuş glikoz intoleransı ve diyabet riski altındadır (35). GDM' nin sonraki gebelikte tekrar görülme oranı ilk trimesterdeki kiloya bağlı olarak %60-90 arasındadır (36).

#### **2.1.4. Gebelikte Diabet Tanısı**

Gebelikte saptanan değişik derecelerdeki karbonhidrat intoleransının çok büyük bir çoğunluğunu gestasyonel diabetes mellitus oluşturmaktadır. GDM ilk kez gebelik sırasında başlamış veya saptanmış olan çeşitli derecelerdeki karbonhidrat intoleransı olarak tanımlanır. Şüphesiz, gestasyonel diabetli bazı kadınların daha öncesinde tanı konulmamış glukoz intoleransı vardır. Özellikle 24. gebelik haftasından önce açlık hiperglisemisi saptanan kadınların gebelik çıktıları klas B ile F-R arasında olan kadınlarla benzerdir. Erken gebelik haftalarında saptanan hiperglisemi aynı zamanda HbA1c yüksekliği ile beraberse hasta pregestasyonel diabet kabul edilmelidir (28, 37). GDM gebeliğin diabetojenik etkisinin bariz bir şekilde açığa çıktığı gebeliğin ikinci yarısında araştırılır.

#### **2.1.5. Tarama**

Yıllardır devam eden araştırmalara rağmen, gestasyonel diabetin taramasına yönelik optimal yaklaşım açısından görüş birliği sağlanamamıştır. Genel mi yoksa seçici tarama mı kullanılması, ayrıca hangi 50 g'lık glikoz yükleme test eşiğinin gestasyonel diabet riskindeki kadınları tanımlamak için en iyisi olduğu hala tartışılmaktadır (37). Genel taramaya yönelik 1997 yılında yapılan dördüncü atölye çalışmasında daha önce yapılan öneriler, seçici tarama yönünde değiştirilmiştir (28, 30, 37) (Tablo 3).

**Tablo 3.** Gestasyonel Diabet Taraması İçin Risk Değerlendirilmesi

**Düşük risk durumu :** Düşük risk grubunda glukoz testlerine gerek yoktur, ama bu grup aşağıdaki kriterlerin hepsinin geçerli olduğu kadınlarla sınırlıdır.

- Yaş < 25
- Gebelik öncesi normal kilolu
- GDM prevalansı düşük olan etnik gruplara ait olması
- Birinci derece yakınlarında diyabet bulunmaması
- Bozuk glikoz toleransı anamnezinin olmaması
- Kötü obstetrik sonuç veya makrozomik bebek öyküsünün olmaması

**Yüksek risk durumu:** Yüksek risk durumunda gebe tespit edilir edilmez glikoz testi yapılır ve erken yapılan testte diyabet tanısı konmazsa 24–28. haftalar arasında tekrarlanır.

Aşağıdaki kriterlere sahip kadınlara erken test yapılmalıdır.

- Obezite
- GDM anamnezi veya makrozomik bebek doğurma öyküsü
- Glikozüri
- Kuvvetli ailesel diyabet anamnezi

Açlık kan şekeri  $\geq 126$  mg/dl veya herhangi bir zamanda ya da postprandiyal glikoz seviyesi  $> 200$  mg/dl olan kadınlar GDM kriterlerini doldurur ve daha ileri glikoz testlerine gerek yoktur. Diğer bütün yüksek risk statüsündeki kadınlara 50 g glikoz yükleme testi veya direkt 100 g oral glikoz testinin en yakın zamanda yapılması gerekir. İlk test normal ise 24-28. haftalar arasında tekrar edilir.

**Orta risk durumu:** Bu grup yüksek veya düşük risk durumuna girmeyen kadınlardan oluşur. Bu durumda 24–28. haftalarda 50 g glukoz yükleme testi yapılır ve pozitif ise 100 g üç saatlik oral glikoz tolerans testi yapılır.

## Dördüncü Uluslararası Gestasyonel Diyabet Atölye Çalışması Konferansı

Taramada amaç tanı değil risk altındaki grubu saptamaktır. Önceleri tarama için gebenin kişisel ve ailesel hikayesi kullanılıyordu. Ailede diyabet öyküsü olan veya daha önceki gebeliklerde ölü doğum, makrozomik bebek hikayesi olanlar tanısal 3 saatlik 100 g oral glikoz tolerans testi (OGTT)'ne yönlendiriliyordu. Ancak bu şekilde hikayeye dayalı tarama ile GDM' lilerin %50 si tanınabiliyordu. Daha sonra O'Sullivan ve arkadaşları tarama için 1 saatlik 50 g yükleme testini ortaya attılar (37, 38, 39).

50 g tarama testinde 24-28. gebelik haftaları arasında günün herhangi bir saatinde ve son yemeğin saatine bakılmaksızın 50 g glikoz oral olarak verilir ve 1 saat sonra plazma glikozu ölçülür. Sonuç 140 mg/dl ve üzerinde ise hasta 100 g OGTT için yönlendirilir. Bu testte eşik değer 140 mg/dl alındığında GDM si olanların %80'ni, 130 mg/dl alındığındaysa %90' nı tanınabilir fakat bu durumda %20-25 normal hastanın da testi pozitif olacaktır ve maliyet artacaktır. ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) ve ADA (American Diabetes Association) eşik değer olarak 140 mg/dl'yi önermektedir (28, 37, 40).

Ayrıca birçok çalışmada 50 g tarama testinde çıkan sonuç yükseldikçe GDM riskinin arttığı gösterilmiştir. Sonuç 200 mg/dl ve üstünde ise hasta 3 saatlik OGTT yapılmadan GDM kabul edilmektedir (28).

### 2.1.6. Tanı

GDM tanısı 100 g veya 75 g OGTT kullanılarak konulur. OGTT öncesinde bazı standart koşullar sağlanmalıdır; Bunlar:

- 1) Testten önceki üç gün fiziksel aktivite kısıtlanmamalı, diyet günde en az 150 g karbonhidrat içermelidir.
- 2) Test 8-14 saat gece açlığını takiben sabah uygulanmalıdır.
- 3) Test süresince hasta oturur durumda olmalı ve sigara içmemelidir.
- 4) Açlık kan şekeri için kan alındıktan sonra 1, 2 ve 3. saatlerde tekrar kan şekere bakılmalıdır (75g da 3. saate bakılmaz).



Eğer bakılan kan şekeri düzeylerinden iki veya daha fazlası eşik değerleri aşarsa GDM tanısı konulur (40, 41) ( Tablo 4).

**Tablo 4.** 100 g OGTT tanı kriterleri (40, 41)

(American College of Obstetricians and Gynecologists: Diabetes and pregnancy)

Ölçümün zamanı	Ulusal diyabet veri grubu	Carpenter ve Couston
Açlık	105 mg/dl	95 mg/dl
1. Saat	190 mg/dl	180 mg/dl
2. Saat	165 mg/dl	155 mg/dl
3. Saat	145 mg/dl	140 mg/dl

100 g OGTT’de tek değer yüksek bulunduğunda seçilecek yaklaşım konusunda görüş birliği yoktur ancak bunlarda makrozomi başta olmak üzere perinatal morbidite artmaktadır (28, 42). Bu gebelerde testin 32-34. haftalarda tekrarı önerilir (43). Eğer OGTT’ de yüksek olan tek değer açlık kan şekeri ise ve bu değer 126 mg/dl üzerinde ise başka bir gün tekrar açlık kan şekeri bakılır. Sonuç yine 126 mg/dl üstünde ise gebe GDM tanısı alır (28).

### 2.1.7.Diabetik Anne Bebeği

DM gebelik süresince fetal gelişimi olumsuz etkileyen ve yenidoğanda önemli metabolik bozukluklara yol açan bir hastalıktır. Günümüzde özellikle gebelik öncesi veya gebeliğin ilk haftalarında diyabetin tanımlanması ve hipergliseminin kontrol altına alınmasıyla, hastalığın neden olduğu konjenital anomaliler azalmış, uygun perinatal ve neonatal yaklaşımlarla fetal-perinatal ölümler %3’ün altına düşürülmüştür (44, 45).

Maternal hipo-hiperglisemi, ketoasidoz, preeklampsi, üriner sistem enfeksiyonu, hipertansiyon ve hidramniyoz diabetik gebelerde sık görülmekte ve fetusu olumsuz etkilemektedir. Erken devrede görülen maternal hipoglisemi fetusu etkilemez. Hiperglisemi

ise 24-28. gebelik haftasından başlayarak belirginleşir, fetal kayıplar bu devreden sonra artar. Ölüm nedeni açık olmamakla birlikte, diabetik gebelerde yükselen HbA1C' nin oksijen taşıma kapasitesinin az oluşuna bağlı olarak gelişen doku hipoksisi, maternal metabolik asidoz ve hiperglisemi mortalite ve morbiditeden sorumlu tutulmaktadır (46, 47). Gebelikte Tip 1 diabet % 0.1-0.5, gestasyonel diabet % 3-12 oranında görülürken, DAB' ne 1000 canlı doğumda 1 olarak rastlanılmaktadır (48).

### 2.1.8. Diabetik Anne Bebeğinin Sorunları

Diabetik anne bebeklerini doğumdan sonra tanımak kolaydır. Genellikle yüksek doğum tartılı olan bu bebeklerin yanakları tombul ve kırmızıdır (domates yüzü). Yüz görünüşleri sıkıntılıdır ve adeta “ beni rahat bırakın “ der gibidirler. Genellikle hafif hipotonik ve solunum sıkıntıları olan, pletorik bebeklerdir (48). Diabetik anne bebeklerinde sık karşılaşılan sorunlar Tablo 5’de gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Diabetik anne çocuklarında sık karşılaşılan sorunlar (48).

<ul style="list-style-type: none"><li>•Hipokalsemi</li><li>• Makrozomi</li><li>• Hipoglisemi</li><li>• Solunum sıkıntısı</li><li>• Konjenital anomaliler</li><li>• Polisitemi</li><li>• Hiperbilirubinemi</li><li>• Perinatal asfiksi</li><li>• Doğum travması</li><li>• İntrauterin büyüme geriliği</li></ul>
--

Diabetin fetus üzerindeki en önemli etkisi "makrozomi"(irilik) dir. Vasküler komplikasyonlu diabetli gebelerde plasental yetersizliğe bağlı olarak intrauterin gelişme

geriliği (small for gestational age=SGA) görülürken, bunun dışındaki diabetik gebelerde %20-40 oranında fetus gelişimi gebelik yaşına göre fazladır. Fetal makrozomi "Pederson hipotezi" ile açıklanmak istenmektedir: Annede insülin yetersizliğine veya etkisizliğine bağlı olarak gelişen hiperglisemi, plasentadan kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla fetusta hiperglisemi'ye neden olmakta, bu da fetal pankreasta "adacık hücre" hipertrofi ve hiperplazisine yol açmaktadır. Hiperinsulinemi, lipid ve serbest aminoasitlerin insulinojenik etkilerinin yanı sıra plasental yapı ve fonksiyon değişikliğinin de fetal makrozomi gelişiminde rolü olduğu düşünülmektedir (49).

İnsülin fetusta "growth promoting factor" olarak etki yaparak, özellikle üçüncü trimesterde glikojen depolanmasını, yağ ve protein sentezini artırarak anabolizan rol oynamakta ve böylece hücre gelişimini uyarmaktadırlar. Bu olgularda plasental ağırlık da artmıştır. Amnion sıvısı ve kordon kanında yükselen C-peptid düzeyi ile makrozomi arasında pozitif korelasyonun olması bu görüşü destekler niteliktedir (45, 50, 51).

Diabetik anne bebeklerinde hücrelerde insülin reseptör sayısının arttığı saptanmıştır. Growth hormon (GH), glukokortikoidler (GK) ve glukagonun makrozomi de etkisi olmadığı belirtilmektedir. Diabetik anne bebeklerinde plazma GH ve GK düzeyleri normal, glukagon düzeyi düşük bulunmuştur. Somatomedinler ise (insülin like growth factor =IGF1, IGF2) değişkenlik göstermektedir (52).

Hiperinsulinemi makrozomiden tek başına sorumlu tutulmamaktadır. Nitekim maternal diabetin oldukça iyi kontrol edilmesine karşın diabetik anne bebeklerinin yüksek oranda (%30) gebelik yaşına göre büyük saptanması (large for gestational age=LGA), olayın karmaşık metabolik-endokrin bozukluklar zinciri sonucu geliştiğini göstermektedir. Annenin enerji alım ve harcamaları, yüksek plazma serbest yağ asitleri ve aminoasit düzeyleri, maternal obezite ve annenin kendi doğum tartısı makrozominin gelişiminde belirleyici rol oynamaktadır (44, 45).

### **2.1.9. Diabetik Anne Bebeklerinde Klinik Bulgular ve Metabolik Bozukluklar**

Diabetik anne bebekleri iri yuvarlak yüzlü ve pletorik görünümündedir. Kulaklarda kılınma (hipertrikosis) sık görülür. İntrauterin gelişme geriliği, vasküler komplikasyonlu diabetiklerde saptanır. Kemik yaşı gebelik yaşına göre normal veya daha küçüktür. Beyin

büyümesi vücuda oranla geri kaldığından başı küçük görülür. Organ büyümesi selektif olup özellikle karaciğer, kalp ve sürrenallerde daha belirgindir. Hepatomegalinin nedeni, hematopoitik sistem hiperplazisi ve parankim hücrelerinde glikojen ve yağ depolanmasıdır. Pankreasta beta hücrelerinde hiperplazi vardır. Miyokarda yağ ve glikojen depolanmasından çok miyofibril hacmi artmıştır (53).

Bebeklerin iri olması nedeniyle klavikula kırığı, brakial pleksus ve frenik sinir zedelenmesi, sefal hematom ve intrakranial kanama gibi doğum travmaları normal bebeklerden daha sık görülür. Sezaryenle doğanlarda bu riskler azalmaktadır (44, 54).

### **2.1.9.1. Respiratuvar Distres**

DAB'nde solunum güçlüğü % 40-50 oranında görülür. İlk saatlerde ortaya çıkan ve üç gün içerisinde kaybolan yenidoğanın geçici takipnesi (wet lung disease), doğum travayı gerçekleşmeden yapılan elektif sezaryenle doğan term bebeklerde daha sık görülür. Travayla oluşan noradrenalin sekresyonunun olmamasına bağlı olarak gelişen akciğer sıvısının resorbsiyonunun gecikmesi neden olarak gösterilmektedir. En önemli hastalık ise "respiratuvar distres sendromu" (RDS)'dur. Benzer gebelik yaşında doğan normal bebeklerden 5-6 kat fazla görülür. Esas nedeni fetal hiperinsülinizmdir. İnsülin kortizolün sürfaktan sentezine olan katkısını antagonize etmekte ve bunu glukokortikoid reseptörlerini bloke ederek veya fosfolipid sentezinde rol oynayan enzimleri inhibe ederek yapmaktadır. Diabet ve gebelik komplikasyonları nedeniyle prematür ve/veya sezaryenle doğan RDS gelişimini kolaylaştırmaktadır. Vasküler bozukluk olmayan DAB'nde sürfaktan yapımı azalırken, vasküler komplikasyonlu anne bebeklerinde uzun süreli hipoksiye bağlı olarak akciğer matürasyonu hızlanmakta ve sürfaktan yapımı artmaktadır (55).

Amnios sıvısında akciğer matürasyonunu gösteren lesitin/sfingomyelin (L/S) indeksi DAB için her zaman güvenilir değildir. Yüzde yirmi yalancı pozitiflik mevcuttur. Zira diabetli gebede görülen polihidramnios ve fetal sık solumadan dolayı lesitin amnios sıvısına karışmaktadır. Bu nedenle fosfatidilgliserol (PG) tayini daha güvenilir sonuç vermektedir. Bazı DAB'nde L/S oranı 3'den fazla olduğu halde PG'un yeterli ölçüde bulunmadığı gösterilmiştir. Sürfaktan yapı ve kompozisyon bozukluklarının ve "surfactan associated

protein”(SP-A gibi)’lerin düşük düzeylerinin RDS gelişiminde önemli rolü olduğu belirtilmektedir (44).

Respiratuvar distres sendromuna ek olarak DAB’de solunum sıkıntısının diğer sebepleri pnömoni, hipertrofik kardiyomiyopati ve yenidoğanının geçici taşipnesidir. Yenidoğanının geçici taşipnesi, DAB’de normal bebeklere göre iki veya üç kez daha sık görülür (56).

### **2.1.9.2. Yapısal Kardiyak Malformasyonlar**

Diyabetik anne bebeklerinde annede diyabetin kontrolü, ırk, sosyoekonomik duruma bağlı olarak değişik oranlarda konjenital kalp hastalığı meydana gelir. Majör kardiyovasküler defektler için en yüksek göreceli risk, annede gestasyonel diyabet varlığında ve üçüncü trimesterde insülin direnci gelişmesi ile görülür (44, 51, 57, 58).

Annedeki diyabetin metabolizma üzerindeki etkileri malformasyonların artmasından sorumludur. Bununla beraber, HbA1c değerlerinin maternal diyabetik kontrolün göstergesi olarak kullanıldığı diğer çalışmalarda, fetüsteki konjenital kalp hastalıklarının önemli ölçüde annenin diyabet kontrolüyle ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Diyabetik anne bebeklerinde en sık kardiyak anomaliler ventriküler septal defekt, büyük arter transpozisyonu ve aort stenozudur. Trunkus arteriozus ve çift çıkışlı sağ ventrikülün dahil olduğu büyük arterleri içeren defektlere de diyabetik anne bebeklerinde daha sık rastlanır (47). Hastanın kliniği, tanısal yaklaşım ve tedavi, mevcut yapısal kalp hastalığının tipine bağlıdır ve diyabetik olmayan annelerin yenidoğanlarından farksızdır.

DAB’nde hipertrofik miyokarda bağlı kardiyomegali (hipertrofik kardiyomiyopati) %50, konjestif kalp yetmezliği ise %5-17 oranında görülür. Yüzde kırk olguda elektrokardiyografide tek veya biventriküler hipertrofi, dal blokları gözlenebilir. Ekokardiyogramda başta simetrik septal hipertrofi olmak üzere, ventrikül duvar kalınlaşması ve ventrikül çıkım darlığı görülebilir. Kalpteki hipertrofik değişiklikler 2-12 ay içerisinde düzelme gösterir. Kardiak tutulum derecesi maternal diabet kontrolü ve fetoneonatal hiperinsülinizme bağlıdır. Hipoglisemi derecesi ile kardiak belirtiler korelasyon göstermektedir. Konjestif kalp yetmezliği bulguları ilk 2-4 hafta arasında ortaya çıkmaktadır (59, 60).

### 2.1.9.3. Konjenital Anomaliler

İnsüline bağlı diyabet (Tip 1 diyabet) konjenital anomaliler için ciddi bir risk faktörüdür. Yaklaşık 8000 Tip 1 diyabetik anne bebeğinin takibi ile yapılan bir çalışmada diyabetik olmayan annelerin bebeklerine göre major malformasyon oranı 7,9 kat artmış bulunmuştur (45). Konjenital malformasyonların %50'si perinatal mortalite ile sonuçlanmaktadır, bu risk glisemik kontrol ile dramatik olarak düşmektedir (61).

Başlıca anomaliler şunlardır:

- a. Kardiyak anomaliler; ventriküler septal defekt, atrial septal defekt, büyük damar traspozisyonu, aort koarktasyonu.
- b. Gastrointestinal anomaliler; anorektal atrezi, küçük sol kolon, trakeoözofajiyal fistül, situs inversus.
- c. Santral sinir sistemi anomalileri; anensefali, holoprosensefali, meningomyelose.
- d. Genitoüriner sistem anomalileri; renal agenezi, kistik böbrek, ureteral duplikasyon, genital agenezi.
- e. İskelet sistemi anomalileri; kaudal regresyon, femoral hipoplazi, vertebral füzyon, hemivertebra.

Bu anomalilerin üçte ikisinde kardiyovasküler sistem (100 canlı doğumda 8,5) veya santral sinir sistemi (100 canlı doğumda 5,3) etkilenmiştir (45). Anensefali ve spina bifida insidansı 13 ve 20 kat artmaktadır. Genitoüriner, gastrointestinal ve iskelet sistemi defektleri de artmıştır. Konjenital anomalilerin hiçbiri DAB için spesifik olmasa da “kaudal regresyon sendromu” olgularının büyük çoğunluğunu DAB oluşturur (52). Vasküler komplikasyonlu ve Tip 1 diyabetli anne bebeklerin ise konjenital malformasyon oranı en fazladır (44, 47, 58, 62-64). Diyabetik anne bebeklerinde konjenital anomali riski, konjenital kalp hastalıkları ağırlıkta olmak üzere %2.5 ile %12 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Anneler konsepsiyon esnasında insülin kullanıyorsa malformasyon insidansı en yüksektir (44, 52, 58).

Diabetik embriyopatinin nedeni; kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik faktörler, maternal vasküler bozukluklar, maternal diyabetin metabolik etkileri sorumlu tutulmaktadır. Genetik faktörlerin önemli rolü bulunmamaktadır. Zira diyabetli babaların bebeklerinde sıklık artmamıştır. Konjenital anomalilerin organogenesis esnasında diabetteki intrauterin çevreye

bağlı olarak geliştiği ve ilk yedi haftalık embriyonal dönemin bu açıdan önemli olduğu düşünülmektedir (63, 65).

Bazılarına göre, maternal hiperglisemi intrasellüler askorbit asit düzeyini azaltırken, ekstrasellüler dehidroksiaskorbat düzeyini arttırmaktadır. Azalan hücre içi askorbat hekzosmonofosfat şant aktivitesini azaltmakta ve böylece DNA sentezi bozulmaktadır. Bu da mitozun durmasına neden olmakta ve hücre bölünmesi engellenmektedir (54).

Ancak hipergliseminin tek başına teratojenik etkisi kesinlik kazanmamıştır. İnsülinin ise teratojenik olmadığı bilinmektedir. Zira erken gebelikte plasenta insüline geçirgen değilken, fetusta on haftadan önce beta hücreleri görülmemektedir. Deneysel çalışmalarda hiperketoneminin “somatomedin inhibiting factor” düzeyini arttırdığı ve nöroektodermal miyoinositol konsantrasyonunda arttırdığı gösterilmiştir. Son zamanlardaki insülin analogu olan “relaxin” sekresyonundaki bozuklukların potansiyel teratojenik etkisi olduğu düşünülmektedir. Uzun süreli hipogliseminin deneysel hayvan çalışmalarında embriyotoksik olabileceği belirtilmektedir (66, 67).

#### **2.1.9.4. Hematolojik Bulgular**

Serumda glikolize hemoglobin olan HbA1c artmıştır. İnsülinin gen ekspresyonunu etkilemesine bağlı olarak gamma globulinden beta globuline geçiş gecikmiştir. HbA1c'nin oksijen taşıma kapasitesinin düşüklüğü ve diabette vasküler komplikasyonlara bağlı olarak gelişen plasental yetersizliğin oluşturduğu hipoksi nedeniyle fetal eritropoietin artmıştır. Yapılan çalışmalarda DAB'inde plazma eritropoietinin arttığını ve insülin düzeyi ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Doku kültüründeki çalışmalar ise insülinin direkt etkisi ile eritroid progenitörlerinin uyarıldığı gösterilmiştir. Artan eritropoietin % 20-40 olguda polistemi ve hipervizkoziteye neden olmaktadır. Ekstrameduller hematopoezis gözlenebilir. Trombositlerde proagregatör endoperoksitler artarken PGI<sub>2</sub> azalmakta, trombosit agregasyonu kolaylaşmaktadır. Hipervizkozitenin etkisiyle damarlarda mikrotrombüs olmakta ve renal ven trombozu gibi hastalıklar normal yenidoğandan daha sık görülmektedir (45).

DAB'nde indirekt hiperbilirubinemi oldukça sık saptanmaktadır (% 20-30). Hemoliz, artmış eritropoiezis, artmış nonhemoglobin katabolizmasının yanı sıra bu bebeklerde sürrenallerden salınan glukokortikoidlerin glukuronil transferaz enzimini inhibe etmeleri, preterm ve solunum güçlüğü olan bebeklerde duktus venozusun açık kalarak bilirubin klirensinin azalmasına yol açması ve anneden geçen nonesterifiye yağ asitlerinin karaciğerde Y ve Z proteinlerinin bilirubine bağlanmalarını engellemesi ve doğum travmasına bağlı sefal hematom indirekt hiperbilirubinemiye neden olmaktadır (41).

### **2.1.9.5. Hipokalsemi-Hipomagnezemi**

Yenidoğanda serum kalsiyum düzeyinin 7 mg/dl veya iyonize kalsiyumun 3.5 mg/dl'nin altında bulunması ise hipokalsemi olarak değerlendirilmektedir. Hipokalsemi, gebelik yaşı ve maternal diabet kontrol derecesine bağlı olarak değişmektedir. Yüzde 15-30 oranında görülür ve sıklıkta birinci günün sonunda ortaya çıkar, genellikle belirti vermez. Hipomagnezemi ise % 30 olguda gözlenir, hipokalsemi ve hiperfosfatemi ile birlikte olabilir. Diabetli gebelerin son dönemlerinde yükselen serum kalsiyumunun bebekte fonksiyonel hipoparatroidiye yol açtığı ve buna bağlı olarak hipokalseminin geliştiği ileri sürülmektedir. Gestasyonel diabette parathormonun azaldığı gösterilmiştir. Hipomagnezeminin ise direkt olarak parathormonunu süprese ettiği saptanmıştır. Doğum asfiksisine bağlı olarak gelişen hücre yıkımının yol açtığı hiperfosfateminin de hipokalsemiyi arttırabileceği belirtilmektedir. Foton absorpsiyometrisi ile DAB'nde kemik mineral içeriğinin azaldığı gösterilmiştir (68, 69).

### **2.1.9.6. Hipoglisemi**

DAB'nde en sık görülen ve en önemli metabolik bozukluktur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda hipoglisemi kan şekerinin 47 mg/dl altında olması olarak tanımlanmıştır (55). Hipoglisemi % 40-50 olguda görülür. Ancak semptomatik bebek sayısı, uzamış ağır hipoglisemi ve geç dönem hipoglisemisi azdır. Genellikle postnatal ilk dört saat içinde olmakta ve büyük ölçüde spontan düzelmektedir. Başlıca hipoglisemi belirtileri, tremor, apne, laterji, emme güçlüğü, hipotoni, hipotermi, tiz ağlama, siyanoz ve konvülsiyondur. Görülme sıklığı, maternal glukoz kontrolüne, diabet süre ve şiddetine, kordon kanında glukoz, insülin,



C-peptid ve HbA1c düzeyine bağlı olarak değişiklik gösterir. Neonatal hipoglisemide doğum sırasındaki maternal kan glukoz düzeyi de etkili olmaktadır. Nedeni, maternal glukoz desteğinden yoksun bebekte saptanan hiperinsülinizmdir. Henüz antiinsülin hormonları devreye girmemiştir, postnatal 2-4 saatlerde artması gereken glukagon düzeyi düşüktür. Serum noradrenalin düzeylerinde artış gözlenirken, kortikosteroid düzeylerinde değişiklik bulunmamıştır. Bu hormonların hipogliseminin kontregülasyonunda etkisiz kaldığı düşünülmektedir. Karaciğerden glukoz oluşumu azalmıştır. Hiperinsülinemiye bağlı olarak serbest immunoreaktif insülin düzeyi on kat, C-peptid immünoraktivitesi ise üç kat artmıştır, proinsülin düzeyi de yüksektir. Plazma serbest yağ asitleri, D-beta hidroksi bütirat; gliserol ve hepatik glukoz yapım oranında azalması, eksojen verilen intravenöz glukoz düzeylerinin hızlı düşüşü, hiperinsülineminin indirekt bulgularını oluşturur. Hipogliseminin her hastada belirtiyeye yol açmamasının nedeni belli değildir. Beyninde enerji için keton cisimlerin kullanılmasının ve artan glikojenin medulla ve spinal korda yayılarak santral sinir sistemine enerji kaynağının oluşturmasının bebeklerde daha çok asemptomatik seyir göstermesine yol açtığı düşünülmektedir (70).

#### **2.1.10. Diabetik Anne Bebeğine Yaklaşım**

DAB'ne bağlı perinatal mortalite ve morbiditesinin azaltılabilmesi için gebelik öncesi ve gebelik sırasında diyet ve insülin dozlarının düzenlenmesi ketozisten kaçınılması, gerekirse diabet kontrolü için uzun süre hastanede izleme alınması gerekmektedir (71). Doğum zamanını saptamak önemlidir. Eğer anne ve bebek yönünden sakıncası yoksa doğum zamanı için en uygun zaman 37-38. gebelik haftalarıdır. LGA'lı bebekler için sezaryen en uygun doğum şeklidir.

Doğum öncesi ve sırasında yenidoğan uzmanı ile işbirliği sağlanmalı ve doğumda resusitasyon şartlarının oluşturulması gerekmektedir. Doğum travayı gerçeğeşmeden yapılan sezaryenle doğan DAB'nde daha sık gözlenen yenidoğanın geçici takipnesi, ilk saatlerde RDS ile ayırıcı tanıda karıştırılırsa da, daha çok termde bebeklerde görülmesi, akciğer havalanmasının olması, hipoksi (PO<sub>2</sub>) ve hiperkarbinin (PCO<sub>2</sub>) ağır olmaması, küvoz içi veya başlıkla (hood) %60 konsantrasyonu geçmeyen oksijen gereksinimi (FiO<sub>2</sub> <% 60) ve ilk üç günde giderek düzelmesi ile tanı kolaylıkla konulur. Solunum zorluğu gösteren DAB doğum sonrası uygun ısıdaki kuvöze alınmalı, nemlendirilmiş oksijen verilmeli, solunum sayısı,

nabız ve tansiyonu yakından izlenmeli, kan gazları alınmalı ve akciğer grafisi çekilmelidir. Giderek şiddetlenen inleme, takipne, interkostal-subkostal çekilmeler, hipotansiyon, akciğerlerde havalanma yetersizliği, akciğer grafisinde havalanma fazlalığı retikülogranüler veya buzlu cam görünümü, % 60-100 konsantrasyonda oksijen verilmesine karşın asidoz ( $\text{pH} < 7.2$ ), hipoksi ( $\text{PO}_2 < 40 \text{ mmHg}$ ), hiperkapni ( $\text{PCO}_2 > 55 \text{ mmHg}$ ) durumunda RDS tanısı ile ventilator uygulanmasına geçilmelidir (44, 53).

Konjenital anomalilere bağlı postnatal dönemde mortalite artmaktadır. Hipoglisemi çoğu kez düzelirken, 20 yaş civarında insüline bağlı diabet riski diabetli olmayan anne bebeklerine göre 7 kat artmakta (% 0.5-11), anormal glukoz tolerans testi ise % 8-27 oranında saptanmaktadır. Eğer baba diabetli ise risk üç kat artar. Neonatal makrosominin ileride obesiteye yol açabileceği gösterilmiştir. Mental gerilik görülme sıklığı normal popülasyonla aynı olmasına karşın, serebral palsi, epilepsi ve psikomotor gelişim bozukluğu insidansı daha yüksektir. Anne yaşı ve diabetin kontrolü, maternal ketozis, vasküler komplikasyonlar, intrauterin gelişme geriliği, prematürel ve perinatal olaylar bebeğin ilerdeki nörolojik durumunu etkileyen başlıca etmenlerdir (72, 73).

Gebelikte dikkatli medikal ve obstetrik bakım ve uygun neonatal yaklaşım ile DAB'de görülebilecek çoğu komplikasyonları önlemek, normal bir bebek ağırlığı ve postnatal metabolik adaptasyonu sağlamak olasıdır. Çoğu merkezlerde perinatolojistler mümkünse gebelik esnasında tüm kadınların diabet yönünden taranmasını, hiç olmazsa aşın kilo alımı, evvelce iri veya ölü bebek doğum öyküsü, pozitif aile öyküsü ve 25 yaş üstü tüm gebelerde bu taramanın yapılması gerektiği konusunda uzlaşmış görünmektedir (61).

## **2.2. Paraoksonaz**

Paraoksonaz (PON1), hem arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip, glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır (74).

### **2.2.1. Tarihçe**

1946'da Abraham Mazur hayvan dokusunda organofosfat bileşiklerini hidroliz edebilen bir enzimin varlığını ilk kez bildirmiştir (75). Bu enzim 1953 yılında Aldridge W.N.

tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir (76). Uriel tarafından 1961'de insan serumunda yapılan bir çalışmada ilk kez HDL ile PON ilişkisi gösterilmiştir (77). Mackness ve ark., yaptıkları çalışmalar ile, 1985'te PON'un HDL üzerinde bulunduğunu (78), 1988' de, PON'un HDL üzerinde apoA-I'e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini (79) ve 1991 yılında da LDL üzerindeki lipidperoksit birikimini azalttığını bulmuşlardır (80). İmmunoaffinite kromatografi çalışmaları insan serum paraoksonazının HDL'nin yapısındaki apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) ile ilişkili olduğunu ve total HDL'nin çok küçük bir bölümünü oluşturduğunu göstermiştir (Mackness ve ark., 1996) (81). Bu bulguların sonucunda araştırmacılar, kardiyovasküler hastalıklar ile PON1 arasındaki ilişkiyi araştırmaya yönelmişlerdir.

### **2.2.2. Paraoksonaz Gen Ailesi**

Paraoksonaz için ilgili insan geni HUMPONA'dır. İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi vardır. PON1, PON2 ve PON3 genlerinin memeliler arasında; %60 sekans benzerliği gösterir. PON ailesi enzimleri substrata spesifik hidrolazlardır. PON1 bu ailenin ilk bulunan ve üstünde en çok çalışma yapılan ferdidir (82).

PON1'de 106. kodonda lizin bulunurken, PON2 ve PON3'te lizin bulunmamaktadır. PON1 ve PON3 karaciğer ve plazmada bulunmasına karşılık, PON2'nin karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında özellikle endotel tabakasında bulunduğu ve aortik düz kas hücrelerinde de yer aldığı immünohistokimyasal yöntemle gösterilmiştir (75).

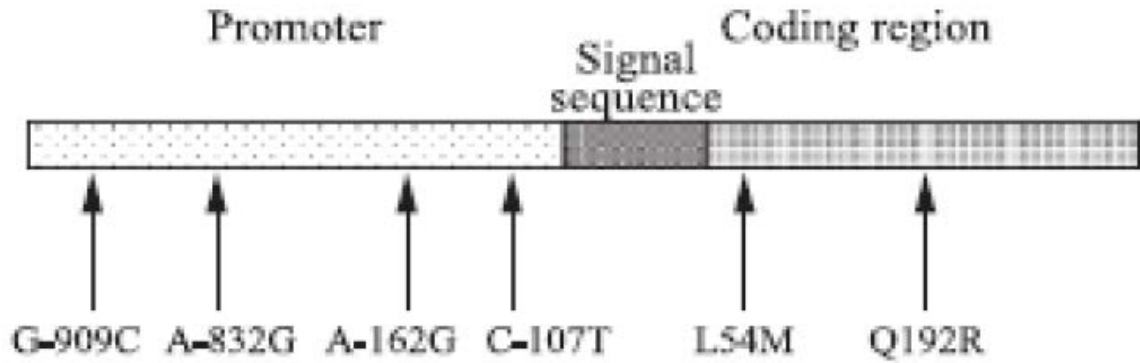
### **2.2.3. PON1**

#### **2.2.3.1 PON1 Gen Polimorfizmi**

Günümüzde, PON1 iki yaygın kodon polimorfizmi gösterir (Şekil 1). Bunlar 55. kodonda metionin (M) ile lösinin (L) yer değiştirdiği (M/L55) ve 192. pozisyonda glutamin ile argininin yer değiştirdiği (Q/R192) polimorfizmdir. Her iki polimorfizm çeşitli patofizyolojik durumlarla ilgilidir. Üzerinde en çok çalışılan polimorfizmler bunlardır. Çünkü

bu iki alloenzimin çeşitli substratlara karşı affiniteleri ve katalitik aktiviteleri farklılık göstermektedir. Paraokson, PON1192R tarafından altı kat daha hızlı hidroliz edilir. PON1192Q ise sarin, soman ve diazoksonu daha hızlı hidroliz etmektedir. Fenilasetat ve dihidrokumarinde ise farklılık görülmez. Tek bir aminoasitteki değişimin enzim aktivitesini bu kadar fazla etkilemesi enzimin yapısına bağlanmıştır. 192. pozisyonundaki arginin aktif bölgenin önemli bir yerindedir. Bu polimorfizm aynı zamanda LDL'yi oksidasyondan koruma özelliğini de etkiler. PON1 192Q alloenzimi daha koruyucudur (83, 84).

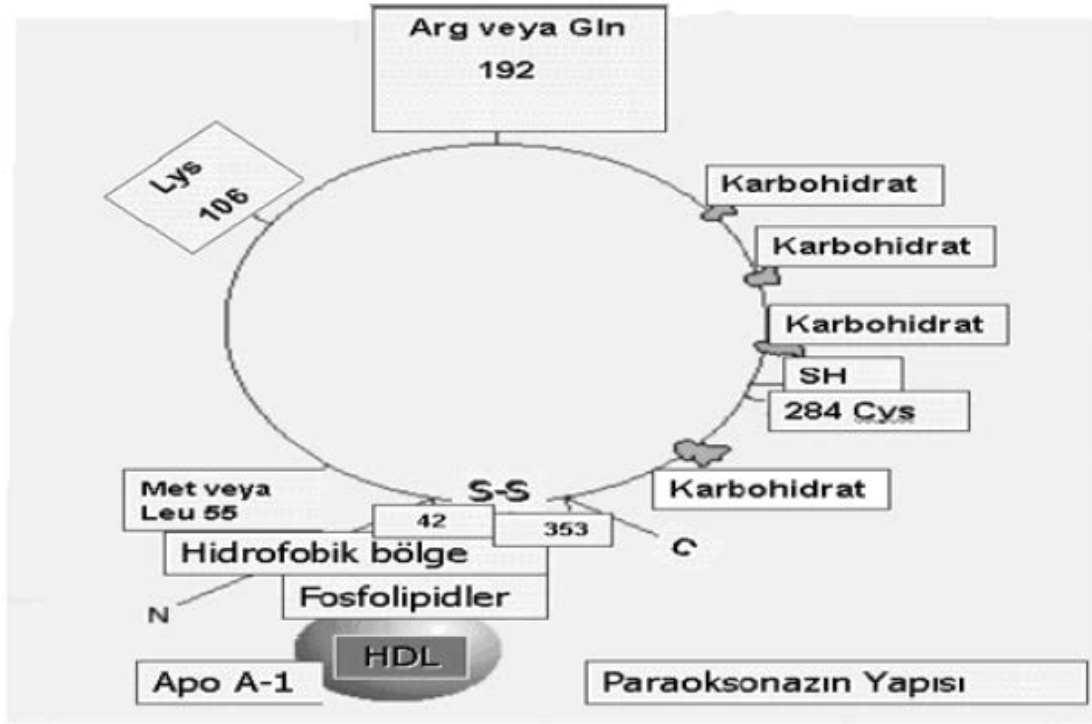
M/L55 polimorfizmi substratla ilişkiyi değiştirmez. Enzimin düşük serum aktivitesi ve konsantrasyonu ile ilişkilidir. M aleli taşıyanlarda düşük PON1 mRNA seviyeleri bulunmuştur. L aleli taşıyanlar, daha stabildir ve proteolizaya daha dayanıklıdır. Bu da yüksek serum aktivitesine sahip olmalarını açıklayabilir (85).



Şekil 1: PON1 geninin polimorfik bölgeleri (83, 84)

### 2.2.3.2. PON1'in Yapısı

İnsan serumundan saflaştırılan PON1, minimum 43000 dalton ağırlığında, 354 amino asitten oluşan bir glikoproteindir. Ağırlığının %15.8'ini oluşturan karbohidrat üniteleri, 4 farklı konumda proteine bağlı olarak bulunur (Şekil 1). PON1'in amino asit bileşimi incelendiğinde, lösin içeriğinin yüksek olmasına karşılık, "kringle" yapısına sahip olacak kadar sistein içermediği görülür. Bununla beraber, 42, 284 ve 353. konumlarda yer alan sistein artıklarının, PON1'in yapısal ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunduğu söylenebilir. Protein yapısında bulunan tek disülfid bağı, polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasına neden olmaktadır (Şekil 2) (86).



**Şekil 2.** İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin Yapısı (86)

KC'de sentezlenen ve dolaşıma verilen PON1'in HDL yapısında yer aldığı bilinmektedir. PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apolipoprotein A1 (Apo A1) ve Apo J (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo A1 ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (86).

PON1, 6 yapraklı beta tabakası bir yapı içerir (87). Her bir yaprak 4 beta tabakası içerir ve enzimin merkez kısmında yapı ve katalitik aktivitesinin korunması için gerekli olan iki kalsiyum atomu vardır. Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyum olup, yapıdan uzaklaştırılması irreversibl denatürasyona neden olmaktadır. Diğeri ise katalitik etkinlikte görev alan kalsiyumdur. Bu kalsiyum iyonu bir su molekülü ile fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşmektedir (87).

#### 2.2.4. PON2

PON2, molekuler ağırlığı yaklaşık 44 kDa olan hücre içinde elde edilen büyük bir proteindir (4, 88). Paraoksonaz gen ailesinin üyesi olan PON2 hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. PON2, hemen hemen her insan dokusundan elde edilebilir, yüksek oranda ekspresyon karaciğer, böbrek, plasenta, testis ve kalpte yapılır (89). PON2, kromozom 7q21.3-22.1 üzerinde bulunan paraoksonaz gen ailesinin ikinci üyesidir (89). PON1'e benzerlik gösteren PON2 patofizyolojik şartların sayısına bağlı olarak iki polimorfizme sahiptir. Populasyon çalışmalarında PON2 148. pozisyonda alanin veya glisin (A/G148) ve 311. pozisyonda sistein veya serin (C/S311) aminoasitlerinin yer değişimine bağlı olarak polimorfizm göstermektedir. A/G148 polimorfizmi total veya LDL kolesterol seviyeleri, plazmadaki glikoz seviyeleri ve başlangıç ağırlığının değişimleri ile ilişki halindedir (90, 91). C/S311 polimorfizmi ise kalp damar hastalıkları, tip 2 diyabet, alzheimer ve menopoz sonrası kemik ağırlığını düşmesi ile ilişkilidir (92, 93).

PON2 genetik polimorfizmi ile farklı plazma lipoproteinleri arasında bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir. İlk olarak PON2 gen polimorfizmleri, lipoprotein metabolizmaları üzerinde direkt bazı fonksiyonel etkilere sahiptir. Örneğin PON2 polimorfizmi lipoproteinlerin sentez ve salgılanması üzerinde fonksiyonel etki gösterir. İkinci olarak PON2 polimorfizmleri PON aktivitesini etkileyebilir. Lipit metabolizma yolundaki bazı önemli enzimleri (lipoprotein lipaz, hepatik lipaz gibi) aktif yada inaktif yapabilir. Bunun sonucunda lipoprotein kompozisyonu ve lipit seviyeleri değişikliğe uğrayabilir. Benzer ilişki farklı etnik populasyonlardan alınan örnekleri belirleme de zorluk yaratabilir. Bununla birlikte PON2 polimorfizminin lipoproteinlerle ilişkisi belirlenerek; PON2'nin kromozom 7 üzerindeki genetik polimorfizmlerinin, plazma lipoproteinleri içerisindeki ortak karakterlerin önemli varyasyonlar ile bağlantılı olduğunu gösterir (94). PON2'nin fizyolojik ve patofizyolojik fonksiyonları az bilinmesine rağmen, hücresel düzeyde antioksidant etkisi olduğu bilinmektedir. PON2'nin transfer edildiği hücrelerde oksitlenmiş lipitler yada hidrojen peroksidin neden olduğu hücre içi oksidatif stres seviyesinin belirgin şekilde düştüğünü gösterir.

Rosenblat ve ark.'nın yaptığı çalışma da saflaştırılmış rekombinant PON2'nin, LDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir (88, 95). Ayrıca PON2,

minimal oksitlenmiş LDL'nin oksidasyonunu da geciktirebilir (MM-LDL). Sonuç olarak; PON2, hücreleri oksidatif stresten korur ve hücrel antioksidant olarak görev yapar. Bununla birlikte PON2'nin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (94).

### 2.2.5 PON3

PON3, moleküler ağırlığı yaklaşık 40 kDa olan bir proteindir. Paraoksonaz gen kümesi içerisinde insanda kromozom 7 üzerinde PON1 ve PON2'nin arasında bulunur. PON1 ve PON2'ye karşılık PON3, son zamanlarda tanımlanmış karakterizasyonu en az bilinen proteindir. Son zamanlarda İtalya'nın güneyindeki populasyon üzerinde yapılan çalışmalara göre PON3, 311. pozisyonda serin veya tironin (S/T311) ve 324. pozisyonda glisin veya aspartik asit (G/D324) aminoasitlerinin yer değişimine bağlı olarak iki polimorfizm göstermektedir. Fakat bu polimorfizmlerin fonksiyonel önemi belirlenememiştir (89, 94, 96).

PON1 benzerlik gösteren PON3'te karaciğerde sentezlendikten sonra kana salınır, orada spesifik olarak HDL'ye bağlanır. HDL periferel hücrelerden kolesterolün taşınmasını sağlayan ve kendisine bağlı platelet aktive eden faktör, PON1 ve PON3 gibi enzimler ile LDL'nin oksidasyonunu önler (96).

PON1 ve PON3 arterosklerozun önlenmesinde farklı rollere sahiptir. PON3 arteroskleroza karşı bazal koruma fonksiyonu sağlarken, PON1'in koruyucu etkisi daha farklıdır. PON1 ekspresyonu, arterogenezin uyarılması lehine baskılanır (97).

PON3, PON1 ve PON2'ye benzer olarak antioksidant özelliklere sahiptir. Draganov ve ark.'larının yaptığı bir çalışma; tavşan serumundan saflastırılan PON3'un in vitro ortamda LDL oksidasyonunu arttıran bakırı inhibe ettiğini göstermektedir. Yine aynı çalışma göstermiştir ki her mikrogram üzerinden oksidasyona karşı LDL'yi korumada tavşan PON3'u tavşan PON1'inden 100 kat daha güçlüdür (89).

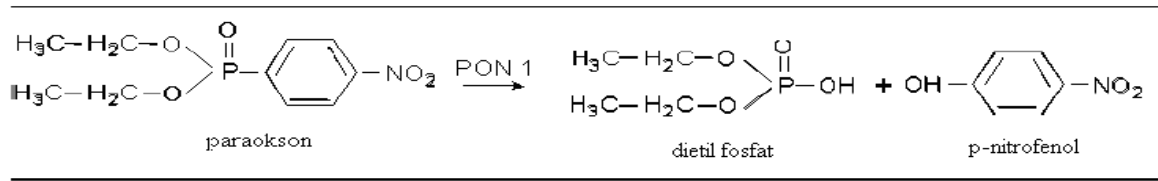
PON3'ün insan dokusunda saflastırılması ve karakterizasyonu zordur. İnsan PON3, HepG2 hücrelerinden klonlanmış ve karakterize edilmiştir (87, 96). PON1'e karşın PON3, ne farelerin karaciğerindeki aterojenik diyet ne de HepG2 hücrelerindeki oksitlenmiş fosfolipitler tarafından düzenlenir. Bununla birlikte PON3 oksitlenmiş lipitlerin birikimini önlemez fakat

oksitlenmiş LDL'nin neden olduğu monosit kemotaksisi engeller (98). Ayrıca doğal substratları bilinmemektedir. PON3, PON1 gibi paraokson ve fenilasetata benzer sentetik substratları hidroliz edemez. PON3, PON1'e göre çok az arilesteraz aktivitesine sahiptir ve paraoksonaz aktivitesi göstermez. Fakat laktonazları çok hızlı hidroliz eder (87, 94, 96).

### 2.2.3.3. PON 1'in Substratları

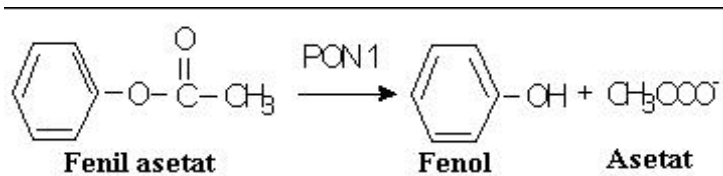
PON1 tarafından hidrolize edilen bileşikler olan organofosfatlar (paraokson ve diazokson), sinir gazı ajanları (somon ve sarin) ve aromatik esterler (fenilasetat) PON1'in non-fizyolojik substratları olduğu bildirilmiştir.

Parokson (O, O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat), paraoksonazın hem Aril esteraz aktivitesini hem de Paroksonaz aktivitesini ölçmede en sık kullanılan substrattır (Şekil 3) (86).



**Şekil 3.** Paraoksonazın Paraoksonu hidrolizi (86)

Fenil asetat ise sadece arilesteraz aktivitesini ölçmede kullanılan bir substrattır. PON1 polimorfik dağılımı nedeniyle aynı substrata karşı farklı aktivite gösterir (86) (Şekil 4).



**Şekil 4.** Paraoksonazın Fenil Asetatı hidrolizi (86)

PON1 lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksidlerinde ve kolesterol ester peroksidlerinde bulunan O ve P arasındaki ester bağınyı hidroliz ettiği gösterilmiştir. Okside olmuş lipoproteinler ve kolesterol esterlerinin HDL bağımlı PON1 için fizyolojik substrat olduğu düşünülmektedir . İnsan arteriyel duvar hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada



PON1'in okside 1-palmitil-2-araşidonoil-sn-glisero-3-fosforilkolin üzerindeki fosfolipid türlerini hidroliz ettiği, böylece HDL'nin LDL'yi oksidasyondan koruyucu etkisinin paraokson hidroliz kapasitesinden bağımsız olduğu görülmüştür (99, 100).

#### **2.2.3.4. PON1'in Fizyolojik Fonksiyonu**

Serum paraoksonaz enziminin, aromatik karboksilik asid esterleri ve paraokson, diazookson, sarin, somon gibi organofosfat türevlerini detoksifiye ettiği pek çok çalışma ile göstermiştir. Paraoksonaz enzimi, paraoksondaki O-P ester bağının hidrolizinden sorumlu olan esterazdır. Son yıllarda PON1'in ayrıca laktonaz, siklik karbonat esterleri ve farmakolojik ajanları da hidroliz ettiği gösterilmiştir. HDL, LDL'yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahiptir. Çeşitli mekanizmalar bu koruyucu rolün açıklanmasında önem kazanmaktadır. HDL ile ilişkili enzimlerin [PON1, LCAT, Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz (PAF-AH)] oksidatif modifikasyonlara karşı lipoproteinleri koruduğuna inanılmaktadır. Paraoksonaz; LDL'yi, Cu iyonunun ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumaktadır. HDL yapısında bulunan PON1 enzimi, Minimal Modifiye LDL (MM-LDL)'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilir. Paraoksonaz, okside LDL'deki kolesterol linoleat hidroperoksitleri ve spesifik okside fosfolipidleri de hidroliz eder. Paraoksonazın, HDL'yi oksidasyondan koruduğunu gösteren çalışmalarda saflaştırılmış PON1'in HDL'ye eklenmesi ile doza bağımlı olarak oksidasyonun lag fazının uzadığı, HDL'de lipid peroksit ve aldehit birikiminin %95'e kadar azaldığı gösterilmiştir. Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipidler de lipid peroksidasyonuna uğramaktadır. Paraoksonaz lipid peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir. LDL oksidasyonu esnasında oluşan okside fosfolipidlerden okside kolesterol esterleri, lizofosfatidilkolinler PON1 enzimidaki serbest sülfidril grubu ile (Sistein 284'deki) etkileşime girer ve enzimin inaktive olmasına yol açarlar. LDL oksidasyonu esnasında PON1'in inaktive olduğuna ilişkin görüşler çalışmalarca desteklenmiştir. Yapılan bir çalışmada, PON1'in arilesteraz aktivitesinin, LDL oksidasyonu esnasında yaklaşık %50 oranında azaldığı gösterilmiştir. LDL'yi oksidasyona karşı koruyan paraoksonaz enzimi okside LDL oluşumu esnasında zamana bağlı olarak inaktive olmaktadır. Bu olayın mekanizması henüz yeterince açıklanamamıştır. Paraoksonazın serbest sülfidril grubu ile lipid peroksidasyonunun bazı ürünleri arasında bir ilişki olabilir. Bu

durum; okside LDL'deki okside kolesteril araşidonat veya okside araşidonat içeren fosfolipidler ile PON1'in sistein 284. bölgesinde bulunan serbest sülfidril grubu arasındaki etkileşim ile ilişkili olabilir (101).

Oksidatif sistemdeki  $Cu^{1+}/Cu^{2+}$  iyonlarının oksidasyon esnasında, PON1'in paraoksonaz/arilesteraz aktivitesi için gerekli olan Ca iyonunun yerine geçmesinin PON1'in kısmen inaktivasyonundan sorumlu olabileceği de düşünülmektedir. Ayrıca bir çalışmada,  $H_2O_2$ 'nin PON1'in güçlü inaktivatörü olduğu da gösterilmiştir. Son zamanlarda MMLDL'nin, Apo J/Paraoksonaz oranının artmasına neden olduğu ve bu olayın okside LDL tarafından PON1 inaktivasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir başka çalışmada ise, karaciğerde PON1 mRNA seviyelerinin okside fosfolipidlerle inhibisyon sırasında azaldığı gösterilmiştir. Yine son yıllarda flavonoidlerin; LDL'nin endojen antioksidanlarının yıkımını engellediği, LDL'nin hücre aracılı oksidasyonunu inhibe ettiği ve HDL ilişkili enzim olan PON1'in aktivitesini koruduğu gösterilmiştir. Paraoksonaz organofosfat hidrolizini gerçekleştirebilmek için Ca gerektirirken; lipid peroksidasyonundan koruyucu antioksidan aktivitesi için Ca gerektirmez (101).

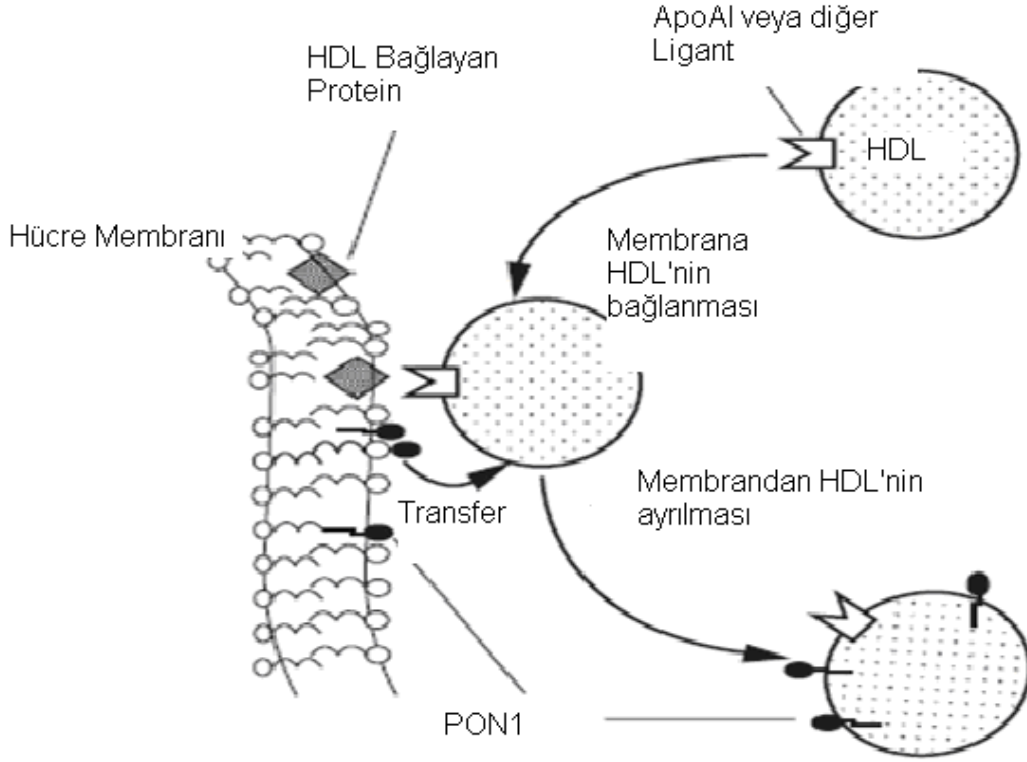
Çalışmalar, PAF-AH ve PON1'in aynı ortamda bulduklarında MM-LDL'deki aktif lipidleri tek başlarına gösterdikleri etkinin toplamı bir etki ile yitdiklerini göstermiştir. LDL'nin  $Cu^{2+}$  iyonu ile uyarılmış oksidasyonunda PAF-AH; Apo-B100 modifikasyonunu ve konjuge dien oluşumunu inhibe eder, ancak TBARS oluşumu üzerine etkisi yoktur. Paraoksonaz ise hem lipid peroksit oluşumu hem de TBARS üretimini inhibe etmektedir. Paraoksonazın yokluğunda PAF-AH ve LCAT, LDL'yi oksidasyondan korumada çok etkili değildirler. Oksidatif stres altında, HDL'de oksidasyona maruz kalmaktadır. HDL-K, lipid peroksitlerin serumdaki en önemli taşıyıcısıdır. HDL-K yapısındaki kolesterol ester hidroperoksitler, LDL'de bulunanlara oranla daha hızlı ancak daha az reaktif hidroksitlere indirgenmektedir. HDL'nin oksidatif modifikasyonu; ters yönde kolesterol taşıma fonksiyonunda bozulmalara yol açar. Paraoksonaz, HDL'yi oksidasyondan koruyarak ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimi yavaşlatmaktadır (101).

### **2.2.3.5. PON1'in Sentezi**

PON1 karaciğer tarafından üretilir ve kana verilir. Kanda HDL ile birlikte bulunur. İnsanda serum PON1 konsantrasyon ve aktivitesi geniş bir aralığa sahiptir. Enzim aktivitesinin ve konsantrasyonunun PON1 geninin polimorfizmiyle birlikte diet, yaşam biçimi ve çeşitli hastalıklardan etkilendiği gösterilmiştir (101).

### **2.2.3.6. PON1'in Hücrelerden Salınımı**

PON1 sekresyonunun mekanizması önemlidir. Çünkü çeşitli faktörler bu mekanizmayı değiştirerek serum düzeyinin belirlenmesini sağlar. Lipoproteinlerin yokluğunda az miktarda PON1 sekrete edilir. Hücrelerden sekrete edilen PON1'i fosfolipid miçeller ve HDL sekresyonu stimüle ederken, LDL ve ApoA1 etki göstermez. PON1, HDL ile fosfolipidlerden ayrılabilir. Membrana bağlı PON1 fenilasetata etki gösterir. HDL'nin belirmesiyle bu etki ortadan kaybolur. Bu da HDL'nin PON1'i hücre membranından ayırabildiğini gösterir. HDL ile indüklenmiş PON1 sekresyonu konsantrasyona bağımlıdır. Aynı zamanda reseptöre de bağımlıdır. HDL en uygun alıcı olmasına rağmen fosfolipid kompleks tek başına hücrelerden PON1 salınımını uyarma kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir . Bununla birlikte sadece fosfolipid içeren lipid kompleks salınım için yeterli değildir. Bu da PON1 salgılanması için niye LDL'nin yetersiz olduğunu açıklamayı sağlayabilir. PON1'in hücre membranının dış yüzeyinde bulunduğu ve HDL yaklaşıncaya lipoproteinler vasıtasıyla HDL'ye geçtiği belirtilmiştir . HDL için bir reseptör olarak daha önceden tanımlanan scavenger reseptör B1 (SR-B1)'in HDL ile PON1 ilişkisini sağladığı hipotezi ortaya atılmıştır. SR-B1 HDL'yi hücre membranına bağlanmasını ve hücre ile lipoproteinler arasında materyal değişimini sağlar. SR-B1, yüksek afinite ile HDL'ye bağlanır ama bağı gevşektir ve fosfolipid komplekse bağlanma kapasitesi vardır. Sonunda PON1'in karaciğerden bol miktarda salındığı belirtilmiştir (Şekil 5) (82).



**Şekil 5.** Hücre membranında bulunan PON1'in HDL'ye transferi (82)

### 2.2.3.7. PON1 VE HDL

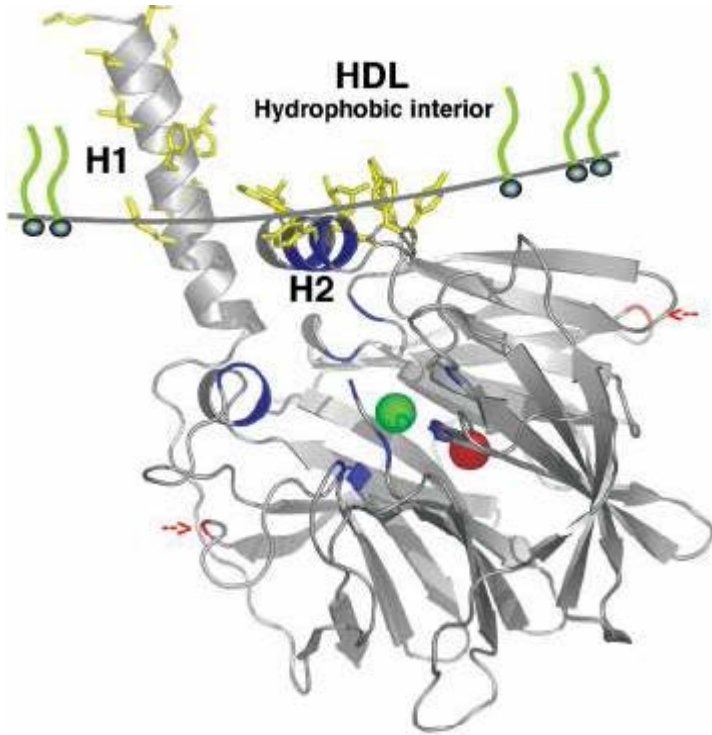
PON1 gen polimorfizmi varyasyonunun %25'ini oluşturur, %75 ise diğer faktörler tarafından sağlanır. HDL, PON1 için serum taşıyıcısıdır. Serum konsantrasyonunun önemli bir göstergesidir. HDL eksikliği olan durumlarda PON1 konsantrasyonu da düşmektedir. PON1 trigliseridden zengin HDL2 partiküllerinde gösterilmiştir. PON1'in büyük kısmı apoA1 içeren HDL ile birlikte. Aynı zamanda, HDL'nin apo j ve clusterin ile ilişkili PON1 içeren bir alt grubu daha vardır. PON1'in büyük ebattaki HDL'ye bağlanma eğilimi diabet gibi HDL'nin azaldığı hastalıklardaki değişimini açıklayabilir (82).

### 2.2.3.8. PON1'in HDL'ye Bağlanması

PON1 ve PON3 karaciğerde sentezlendikten sonra kana salınır, orada spesifik olarak HDL'ye bağlanır. HDL periferel hücrelerden kolesterolün taşınmasını sağlayan ve kendisine

bağlı platelet aktive eden faktör, PON1 ve PON3 gibi enzimler ile LDL'nin oksidasyonunu önler (102, 103).

HDL yaklaşık 10 nm çapında kompleks bir yapıdır. Bileşiminde öncelikle membran bileşenleri (fosfolipidler, kolesterol ve kolesterol esterleri), apolipoprotein A1 ve aromatik heliksler yer alır (104). HDL'ye bağlı olan enzimlerden ilk kez üç boyutlu yapısı aydınlatılan PON1 enzimidir. PON1 hidrofobik N terminal ucuyla sonlanır, H2 ve H1 hidrofobik heliksler bir araya gelerek potansiyel membrana bağlanma yüzeyi oluştururlar (şekil 6). Heliks yapılar lizin, triptofan ve tirozin yan zincirleri ile oluşturdukları yapı karakteristiği ile HDL ara yüzeyine girebilmektedir (105).



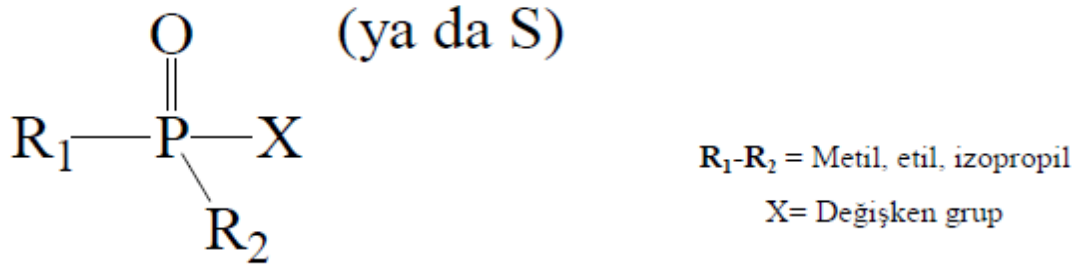
**Şekil 6.** PON1'in HDL'ye bağlanması (105)

## 2.2.6. Hidrolitik aktivite; Organofosfatlara karşı koruma

Paraoksonazın arterosklerozisin önlenmesindeki önemli fonksiyonlarından biri OP karşı koruma sağlamasıdır (106). OP bileşikleri, tarımda pestisit olarak ürün verimini artırma

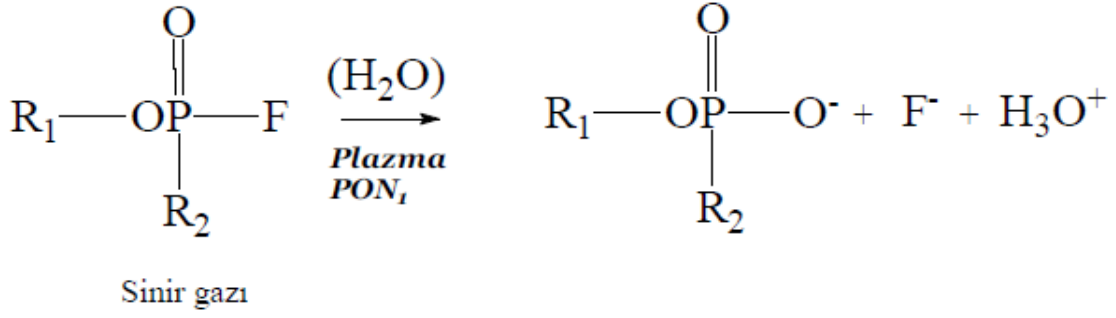
ve veteriner ilaçları yapımında kullanılan fosforik asitlerin triesterleridir. OP'lerin etki mekanizması sinir sistemi içersindeki asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyonu ile ilişkilidir. Asetilkolinesteraz merkezi, somatik ve parasempatik sinir sistemindeki asetilkolinleri ve önemli nörotransmitterleri hidroliz eden bir enzimdir. Paraoksonda asetil kolinleri yıkan kolinesterazların potent inhibitörüdür, ardışık nöron uyarılması ile sinaptik bileşkelerde asetilkolin birikimine yol açar. Memelilerde karaciğerdeki detoksifikasyondan kaçan herhangi bir okson OP etki alanına ulaşmadan önce kanda serum PON1 enzimiyle hidroliz edilebilir. Bu enzimin inhibisyonu ile OP zehirlenmeleri ve sinir sisteminde bozukluklar meydana gelir (107).

Organofosfatlar, tüm bileşiklerinde organik molekülünün bir parçasında fosfat grubu veya fosfat türevlerini içerirler. OP'lerin genel formülü büyük çoğunluğunda aynıdır. Merkezde fosfat atomu bulunur ve fosfat atomunun oksijen veya sülfürle çift bağ yapmasına göre farklı adlandırılır (şekil 7). OP, P=O formunda iken yalnızca asetilkolinesterazları etkileyebilir. Genel olarak kullanıldığı insektisidlerde P=S formun oksijen analoglarına dönüşmesi gereklidir. R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> grupları genelde alkil veya aril gruplarıdır. X grubu geniş bir değişkenlik göstermekle birlikte genelde alifatik, aromatik ve heterosiklik grupları tanımlamaktadır (108, 109).



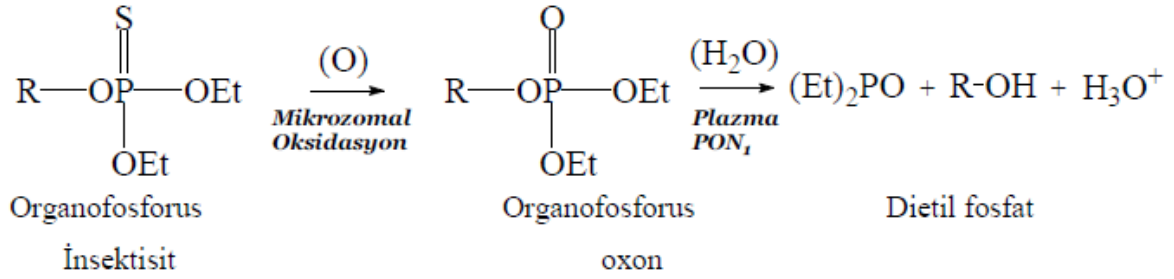
**Şekil 7.** OP bileşiği genel formulu (108)

Organofosfatlar tarımdaki faydalarının yanı sıra insanların hayatını önemli ölçüde tehdit eden toksik kimyasallardır. Paraoksonaz enzimi savunma sistemi oluşturarak OP'lerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır. Soman, sarin ve tabun gibi organofosfat sinir gazlarını hidroliz ederek bunları daha az zararlı bileşiklere dönüştürmektedir (şekil 8) (109).



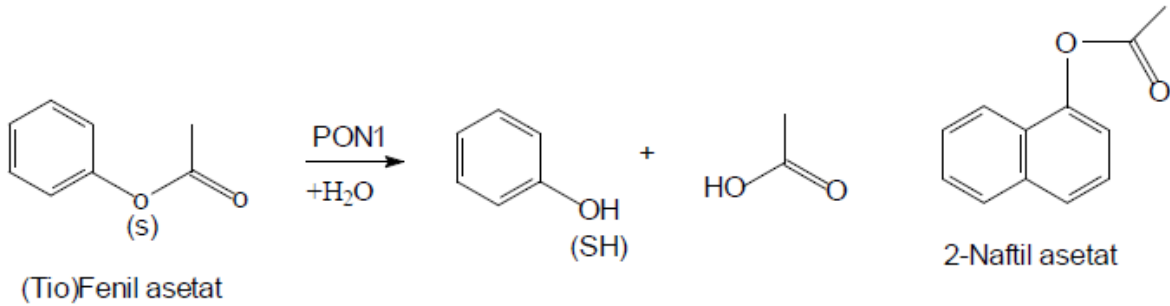
Şekil 8. Sinir gazlarının hidrolizi (109)

İnsan serum paraoksonaz enzimi ayrıca paration, diazinon ve klorpirifos gibi çok sayıda insektisit toksik okson metabolitlerini hidrolizleyebilmektedir (şekil 9) (110).



Şekil 9. Organofosforus İnsektisitlerin detoksifikasyonu (110)

Bu aktivitelerinin yanında PON1 enzimi sınıflandırılmada yer aldığı Arilesteraz grubunda bulunması ile fenilasetat gibi ester substartlarını da hidrolizleyebilmektedir (Şekil 10) (105, 111-113).



Şekil 10. Aromatik esterlerin hidrolizi (113)

PON1 eksikliği gösteren böcekler organofosfat için hedef organizmadır. Memelilere kıyasla kuşlarda organofosfat zehirlenmesine yatkınlık daha yüksek bulunmuştur, bu da

kuşlarda serum PON1 enziminin yokluğuna bağlıdır. Benzer durum sürüngenler ve balıkların zehirlenmeye yatkınlığını da açıklar (10).

Organofosfatlara karşı koruma sadece enzimin kan ve dokuda bulunan düzeylerine bağlı değildir, izoenzimlere de bağlıdır. B tip (R izozim) paraoksonu hidroliz etmede A tipten (Q izozim) daha etkilidir. Fakat birçok organofosfat B'ye göre A izozimi ile daha iyi hidroliz edilebilir. Bu nedenle PON1'in koruyucu rolü değerlendirilirken PON1'in düzeyinin yanısıra tipide dikkate alınmalıdır (106).

### **2.2.7. Lipopolisakkarid inaktivasyonu; Bakteriye endotoksinlere karşı Koruma**

İnsan serumunda HDL'de bulunan bir proteinin bakteriyel lipopolisakkaritleri inaktive ederek toksik semptomları önlediği saptanmıştır. Lipopolisakkarit inaktivasyonu immunolojik olmaktan çok enzimatik bir reaksiyondur. Bu reaksiyondan sorumlu enzimin PON1 olduğu saptanmıştır. PON1, bakteriyel lipopolisakkariti lipit A molekülündeki 4' fosfat üzerine fosfataz etkisi ile hidroliz eder. HDL'nin bir subfraksiyonu olan Tripanolitik faktör (TLF) Trypanosoma brucei brucei'e sitotoksiktir ve apo AI, PON, haptoglobülin ile ilişkili bir proteindir. Lizozomal pH'ta aktive olan PON'un peroksidaz aktivitesi olduğu düşünülmektedir. HDL kompleksinin endotoksin toksisitesine karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Gram (-) bakteriyel enfeksiyon sırasında endotoksemi gelişimine karşı korumayı bir ölçüde sağlar. PON, makrofaj hücre yüzeyindeki CD14 spesifik bağlayıcı proteinle, bakteri yüzeyinden köken alan lipoprotein polisakkaritin etkileşimini önler. Aksi takdirde TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 gibi sitokinlerin salınımını başlatır, bu sitokinler değişik semptomlara neden olur (106).

Dr Standiford'un yaptığı çalışmada; farelere, lipopolisakkarit enjeksiyonundan iki saat önce saflaştırılmış PON1 enjekte edilmiştir ve hayvanların %60'ı hayatta kalmıştır. Buna karşılık farelere LPS enjeksiyonundan 2 saat sonra PON1 verildiğinde farelerin % 30'u yaşamıştır. PON1 enjeksiyonu hiç yapılmadan LPS verildiğinde bütün fareler ölmüştür. Bu ve diğer çalışmaların sonucu olarak PON1'in hücreleri LPS'den koruma yeteneğine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Fakat PON1'in tip ve düzeyinin bireylerin endotoksinlerine karşı duyarlılığı ve sensitivitesinde fark yaratıp yaratmadığı tartışmalıdır (114).

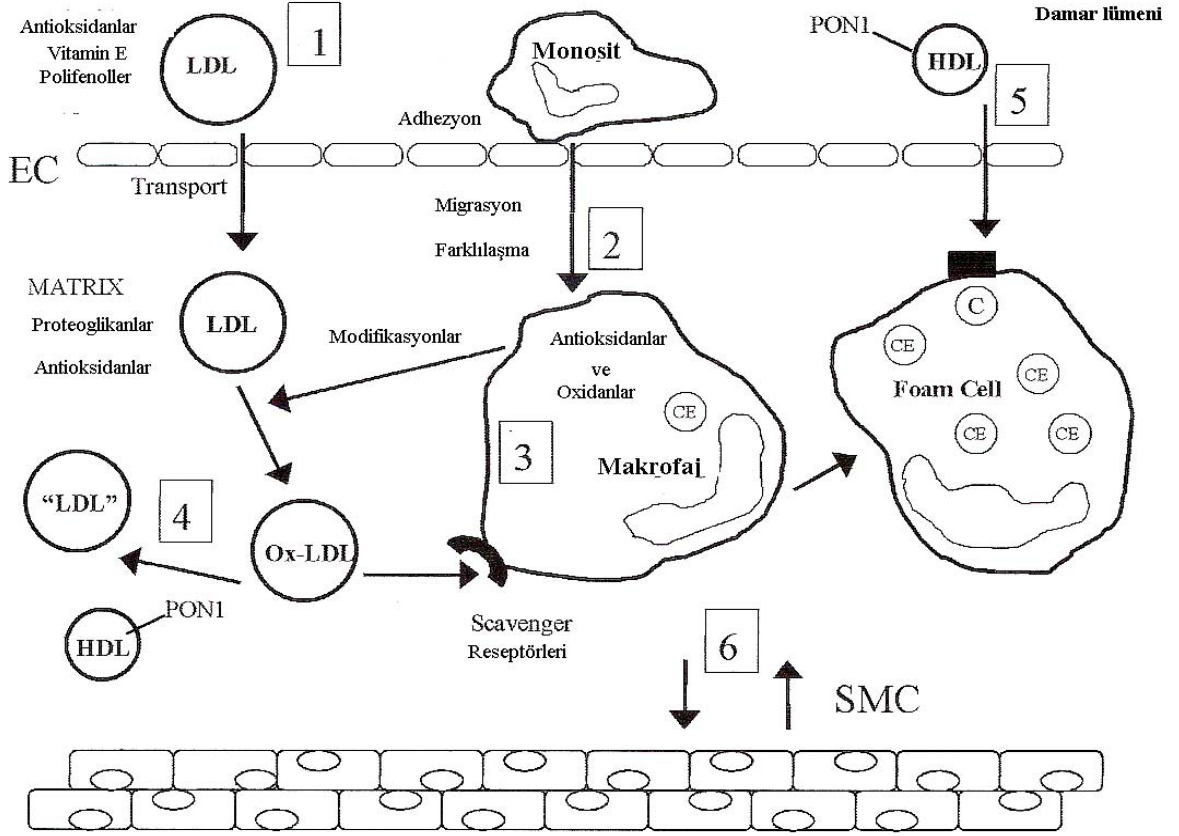


### 2.2.8. Oksidatif veya peroksidatif aktivite; LDL oksidasyonunun önlenmesi

PON1, LDL oksidasyonu üzerinde HDL'nin koruyucu etkisinden sorumlu, HDL ana bileşenidir. HDL, antioksidant ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir ve LDL oksidasyonunu buna bağlı olarak da arterosklerozisi geciktirir. Paraoksonaz arterosklerozise karşı koruyuculuğunu sahip olduğu laktonaz aktivitesi ile göstermektedir. Enzim 4 atomdan 7 atoma kadar değişen lakton halkası ihtiva eden en az 30 çeşit laktonu hidrolizleyebilmektedir (115, 116).

### 2.2.9. PON1' in Ox-LDL ile Etkileşimi

Yüksek dansiteli lipoprotein bağımlı PON1, LDL'yi oksidasyona karşı korur ve aynı zamanda PON1 makrofajlarında oksidatif stres'den korur (117). PON1 inhibitörleri HDL ile birlikte eklendiğinde, LDL oksidasyonunun artırması hem PON1 inaktivasyonuna hem de HDL lipitlerinin total lipit peroksit oluşumuna katılmasına bağlıdır (118). *İn vivo* serum PON1 HDL'ye bağlı olduğu için başlıca görevi HDL'yi oksidatif stresin zararlı etkilerinden korumaktır. Bu nedenle, bir çok çalışma HDL bağımlı PON1'in yalnız LDL oksidasyonunu değil, aynı zamanda HDL oksidasyonunu da (geçiş metal iyonları ve serbest radikalleri aracılığıyla oksidasyon indüklendiğinde) engellemektedir (Şekil 10). Bu etki PON1'in lipoprotein-kaynaklı peroksitlerini hidroliz edebilme özelliğine bağlıdır (119). Benzer ester bağı lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksitlerinde ve kolesteril ester peroksitlerinde bulunabilir. Okside olmuş lipoproteinlerde benzer bir kimyasal yapı HDL bağımlı PON1 için fizyopatolojik substrat olabilir. Okside olmuş HDL'de bulunan peroksitlerin PON1 aracılığıyla hidrolizi, PON1'in daha önce oluşturulmuş olan okside lipoproteinler üzerine ve buna bağlı olarak aterojenik etkileri geri çeviren mekanizmalarda rol oynadığını düşündürür. Okside olmuş HDL'ler üzerine PON1 etki ettikten sonra, yağ asiti hidroperoksitlerinin birikimi azalmıştır. Nitekim bu ürünler hızla metabolize edilirken, PON1 esteraz aktivitesi azalmamıştır (119).



**Şekil 11.** Oksidatif stress altında plazma LDL ve monositlerin arterial duvarda birikmesi ve monositlerin makrofajlara farklılaşması. LDL'nin ekstraselüler matrix proteoglikanlara bağlanıp daha sonra makrofajlardaki scavenger reseptörleri tarafından içeri alınıp Foam cell denilen köpük hücre oluşturması ve PON1'in etkisi (CE: Kolesterol esterleri, C: Kolesterol, SMC:Düz kas hücreleri) (119).

Paraoksonaz ve arilesteraz yalnızca lipoprotein kaynaklı peroksitleri (kolesterol linoleat hidroperoksitleri) hidroliz etmekle kalmaz, bunun yanısıra hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) de hidroliz eder. PON1 spesifik lipid peroksitleri hidroliz eder veya peroksitler için hedef görevi görür.  $H_2O_2$ , arteriyel duvar hücreleri tarafından aterogenez esnasında üretilen başlıca reaktif oksijen türüdür (ROS) ve oksidatif stres altında LDL oksidasyonuna neden olan daha potent ROS'a dönüşür (120). HDL kaynaklı PON1'in  $H_2O_2$  (peroksitlerle beraber) hidroliz etmesi, aterosklerozda rol alan potent oksidanların eliminasyonunda önemlidir. Bu etki PON1'in peroksidaz benzeri aktivitesiyle ve HDL'nin antiaterojenik özelliklerine iştirak etmesiyle açıklanabilir (114). Yüksek dansiteli lipoprotein kardiyoprotektif etkisi, aterojenik LDL oksidasyonunun inhibisyonu veya azaltılması ile yorumlanmaktadır (118, 119, 121). Bu inhibisyonu özellikle MCP-1'in endotel hücrelerinden stimüle ederek yaptığı

ileri sürülmektedir (122). PON1, doymamış yağ asitlerinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> türevlerini elimine ederek, kısmen okside olmuş fosfolipidleri metabolize eder (119). Bu nedenle, PON1 ile KAH arasındaki korelasyon, biyoaktif lipid moleküllerinin metabolizması ve okside olmuş LDL'ye bağlı hasara karşı koruyucu olması ile ilişkilidir (123). LDL, poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan aldehit yapıdaki bileşikleri, apolipoprotein B üzerindeki lizin rezidülerini modifiye edebilir. Buna bağlı olarak okside olmuş LDL, B/E reseptörünce tanınmaz, makrofaj yakalayıcı reseptör tarafından kontrolsüz uptake uğrar. Sonuç olarak, aterosklerotik lezyonların ilk basamakları olan köpük hücreleri ve yağ kalıntıları oluşur (120).

### **2.2.10. PON1 ve Çevresel Faktörler**

PON1 aktivitesi yaş, çevresel kimyasallar, diyet, yaşam şekli, fizyolojik ve patolojik durumlar gibi parametrelerle birlikte değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda PON1 aktivitesi ile yaş arasındaki korelasyon sonucu yaşlı kişilerin gençlere göre HDL oksidasyonundan daha çok etkilendiği gösterilmiştir (124). Yaşla birlikte PON1 aktivitesindeki azalmada PON1-192 (Q/R) polimorfizmi rol oynamaktadır (124). Bunu yanında lipid oksidasyon ürünlerince zengin diyetin serum PON1 aktivitesini ve LDL oksidasyonuna yatkınlığı değiştirip değiştirmeyeceği insanlarda henüz tam aydınlatılamamıştır; ancak Sutherland ve ark., doymuş yağdan zengin diyetin tokluk serum PON1/arilesteraz aktivitesini azalttığını, doymamış yağ içeren diyetin ise ters etki yaptığını gösterdi (106). James ve ark.'larının yaptığı çalışmada sigara kullanan kişilerde kullanmayanlara oranla serum PON1 konsantrasyon ve aktivitesinin daha düşük olduğu saptanmıştır (125). Buna karşın Van der Gaag ve ark.'larının yaptığı çalışmada KAH riski düşük olan sağlıklı erkeklerde ılımlı alkol alımının PON1 aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir (126). Gebelik gibi fizyolojik durumlarda da PON1 aktivitesinde azalma olduğu gözlenmiştir (127).

### **2.2.11. Çeşitli Hastalıklarda PON1**

Hipergliseminin oksidatif stres ve ateroskleroza zemin hazırladığı düşünülürse, DM'li olgularda serum PON1'in rolü ortaya çıkar. PON1192RR ve PON155LL genotipleri IDDM'li (independent Diabetes mellitus) olgularda daha sık izlenmiştir. Ancak yapılan bir çalışmada DM, hiperkolestrolemi, böbrek yetmezliği gibi KAH ile ilişkisi olduğu bilinen hastalıklarda

düşük serum PON1 aktivitesinin genotipten bağımsız olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Diyabetik retinopati ve hipertansiyon gelişen olgularda izlenen düşük serum PON1 aktivitesi, lipid peroksidasyonuna artmış yatkınlıktan kaynaklanmaktadır (128). Lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasar etkisi ile gelişen nöronal dejenerasyon izlenen Alzheimer hastalığının(AH) ateroskleroz ile ilişkisi bilindiğinden PON1 polimorfizmi ile ilişkisi incelenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır (129).

Hepatit C enfeksiyonlu hasta grubunda yapılan bir çalışmada paraoksonaz aktivitesi düşük bulunmuş ve bunlarda PON1 192RR polimorfizminin daha yüksek olduğu tespit edilmiş (130). Düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlara yüksek miktarda C ve E vitamini verilmesiyle PON1'in polimorfizminde değişiklikler saptanmıştır (131). Tavşan inflamasyon modelinde serum amiloid A ve seruloplazmin içeren akut faz HDL artışı ile apo AI, PON1, PAF' ta belirgin azalma gösterilmiş ve HDL'nin antiinflamatuvar/antioksidan durumdan proinflamatuvar/prooksidan duruma dönüşümü sorumlu tutulmuştur. Ateroskleroz riski bulunan üremik renal transplantlı olgularda düşük PON1/HDL ve PON1/apoAI oranları izlenerek bu olgularda HDL'nin antioksidan kapasitesinin azaldığı düşünülmüştür. Sporadik idiopatik Parkinson olgularında PON1 ile metabolize olan çevresel nörotoksinlerin yaşla birlikte nörodejenerasyondan sorumlu tutulabileceği ve B allelin Parkinson hastalığına genetik yatkınlık oluşturabileceği ileri sürülmüştür (132). Hiperhomosisteinemi olan çocuklarda paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktiviteleri düşük bulunmuş ve bunlarda metilasyon reaksiyonlarındaki bozukluğa bağlı olarak nörotransmitterlerin yapısının bozulabileceği bildirilmiştir (133). Lipid oksidasyonuna predispozan bir hastalık olduğu öne sürülen hipertroidili hastalarda paraoksonaz aktivitesi düşük bulunmuştur (134). Antikardiolipin antikorları pozitif bulunan bir grup hastada MM-LDL'ye karşı otoantikorların arttığı, PON1 aktivitesinin belirgin olarak düştüğü ve arteriyel tromboz geliştirme riski yüksek olan R genotipinin de artma eğiliminde olduğu izlenmiştir (135). Sistemik amiloidozda düşük PON1 aktivitesi bildirilmiştir. Plazma lipoprotein düzeylerinin normalden farklı olduğu balık gözü sendromunda HDL kolesterol'ün plazma konsantrasyonunun %90 oranında, PON1 aktivitesinin ise %89 düzeyinde azaldığı gösterilmiştir. Diğer yandan bir başka lipoprotein metabolizma hastalığı olan Tangier hastalığında ise PON1 enzim aktivitesi tayin edilememiştir (136, 137). Pilor stenozlu infantlar yüksek PON1 aktivitesine sahiptirler. Pilor stenozu operasyonla düzeltildikten bir hafta sonra enteral beslenmenin başladığı zamana kadar yükseklik devam eder (138). Van Lenten ve ark., enflamasyonlu tavşan modellerinde

akut faz olarak HDL, amiloid A ve seruloplazminin arttığını diğer taraftan apo A1 ve PON1'in ise dramatik olarak azaldığını göstermişlerdir (139). Bazı deneysel çalışmalarda serum PON1 aktivitesinde değişikliklere rastlanmıştır; yapılan bir çalışmada inflamatuvar cevabın bir parçası olarak düşünülmemekte ve ilginç olarak PON1 aktivitesinin kronik olarak azalmasının, sadece ateroskleroza artırmakla kalmayıp, aynı zamanda akut inflamatuvar şartlara göre daha fazla vücutta kuvvetten düşmeye neden olduğu görülmüştür (135). Sigara gibi çevresel faktörlerin PON1 aktivitesini ve konsantrasyonunu baskılayarak enzimin etkinliğini değiştirebilir. PON1'in paraoksonaz aktivitesinin hormon replasman tedavileri ile arttığı gösterilmiştir (136).

Paraoksonaz enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunduğu prostat kanserli bir çalışmada PON1 geninin 102. kodon'unda yeni bir polimorfizm bulunduğunu ve bu polimorfizm 102'de İzolösinin Valin ile yer değiştirmesiyle meydana geldiğini, bu polimorfizm'in prostat kanserinin nedenlerinden biri olabileceğini ileri sürülmektedir (137).

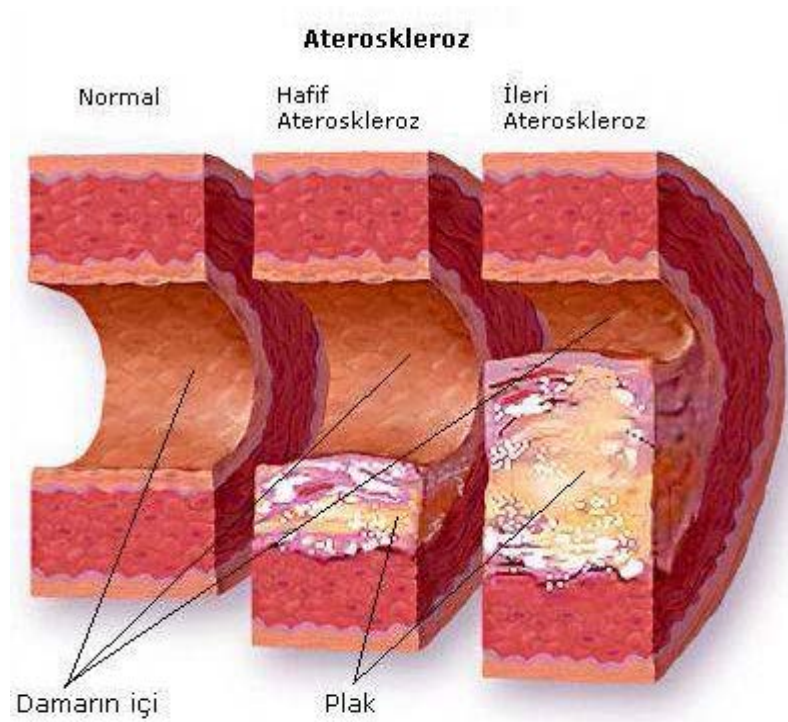
### **2.2.12. Arterioskleroz nedir?**

Arterioskleroz, orta ve büyük çaplı arterlerin kan akımını azaltabilen veya tıkayabilen subintimal kalınlaşmalarıyla (aterom) karakterize edilir. Gelişmiş ülkelerdeki en sık ölüm nedeni arteriosklerozdur. Aterosklerotik lezyonun bulunduğu yere göre klinik sonuçlar değişkenlik gösterir, örneğin koroner arterin arteriosklerozu miyokard enfarktüsü ve anjina pektoris'e yol açarken, merkezi sinir sistemini besleyen arterlerin arteriosklerozunda felç ya da geçici iskemik atak görülebilir. Aterosklerotik lezyonlar sıklıkla kan akımının bozulduğu, arterlerin ayırım noktalarında oluşur. Arteriosklerozun sözlük anlamı atardamar sertleşmesidir (138).

Atardamar duvarı içten dışa doğru iç, orta ve dış olmak üzere üç katmandan oluşur (şekil 12). İç katman bir kat hücre, yani endotel ile onun altında yer alan elastik bağ dokusundan oluşur. Orta katmanda daha çok kas dokusu egemendir. Dış katman ise bağdokusu yapısındadır. Yapı olarak bazı açılardan trigliserit, fosfolipit ve lipoproteine benzeyen yağlar damardaki kanın basıncıyla atardamar duvarının iç katmanlarına doğru itilir. Bu yağlar olağan koşullarda atardamar duvarını asarak lenf dolaşımına katılırlar. Ama kan dolaşımındaki yağların çok fazla, yağ moleküllerinin büyük olması ve atardamar duvarının

esnekliğini yitirmesi durumunda yağlar atardamar duvarının iç ve orta katmanlarında sıkışıp kalırlar. Atardamar duvarındaki enzimler yağ moleküllerini parçalayarak arteroskleroz oluşumundan daha az önem taşıyan kolesterol, yağ asitleri ve başka maddelerin açığa çıkmasını sağlar. Serbest kalan bu maddeler atardamar duvarını tahriş eder. Damar duvarı bu uyarıya iltihabi bir tepki ile yanıt verir. İltihap sonucu gelişen sert bağ dokusu damar duvarını sertleştirir. Bu süreç sırasında yıkıma uğrayan atardamar duvarında, kolayca parçalanabilen yeni kılcal damarlar belirir. Bu da, iltihaplanmanın daha da artmasına yol açar (139).

Yağların sürekli olarak birikmesi ve atardamar duvarının belirli noktalarda kalınlaşması, damar duvarının içeriye doğru katlanarak aterom plaklarının oluşmasına neden olur. Aterom plakları parçalanabilir, ülserleşebilir ya da içeriğinin bir kısmını damara bırakabilir (ateromun ezilerek pelteleşmesi). Özellikle ülserleşme durumunda, dolaşımdaki trombositlerin plak üzerinde birikmesiyle pıhtılaşma süreci başlar. Bu, daha ileride pıhtı oluşumuna ve damar tıkanmasına yol açacaktır. Pıhtıdan kopan parçalar kan dolaşımıyla taşınarak daha küçük çaptaki atardamarları tıkarlar ve ciddi sonuçlara neden olabilirler (138).



**Şekil 12.** Arteroskleroz (139)

Aterosklerotik hastalıklar halen ülkemizde ve gelişmiş ülkelerde birinci sıradaki ölüm sebebi olarak yer almaktadır. Ülkemizde de aynı eğilim görülmektedir. Aşağıdaki tabloda epidemiyolojik risk faktörleri kısaca özetlenmiştir (138).

**Tablo 6.** Epidemiyolojik risk faktörleri

<b>Değiştirilebilir Risk Faktörleri</b>	<b>Değiştirilemez Risk Faktörleri</b>
Sigara içilmesi (10 adet/gün'den fazla)	İleri Yaş
Hipertansiyon	Erkek Cinsiyet
Kolesterol yüksekliği	Ailede erken (55 yaş altında) koroner Damar Hastalığı Hikayesi Bulunması
Lipoprotein a Yüksekliği	Şeker Hastalığı
Fiziksel Aktivite Azlığı (hareketsizlik)	Kişilik Yapısı (stresli yaşantı)
Doğum Kontrol Hapı Kullanımı	Şişmanlık (obezite)
Alkol Kullanımı	

Arterioskleroz tedavisine, hastalık klinik belirtiler vermeden önce başlamak gerekir. Tedavide beslenme alışkanlıkları yeniden düzenlenir; pıhtılaşma önleyici ve pıhtı çözücü (fibrinolitik) ilaçlar, ayrıca lipoprotein miktarını azaltarak kolesterol sentezini ve taşınmasını önleyen ilaçlar kullanılır. Arteriosklerozda cerrahi tedavi de uygulanabilir. Koroner damar ya da büyük atardamarların arterioskleroz sonucunda tıkanıdığı olgularda cerrahi girişime başvurulabilir. Günümüzde koroner baypas ameliyatı ya da tıkanan damarın vücuttan alınan bir başka damar parçasıyla değiştirilmesi gibi uygulamalar yapılmaktadır (138).

### **2.2.13. Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL)**

Plazmadaki asıl kolesterol taşıyıcı partiküldür. LDL % 80 lipid ve % 20 proteinden oluşur. Protein içeriğinin artması nedeniyle partikül çapı düşer (22-28.5 nm) ve dansite artar (1.019- 1.063 gr/ml). Elektroforezde  $\beta$ -fraksiyonu içinde göç eder (140, 141). Lipid içeriğinin

%47'sini kolesterol, %23'ünü fosfolipid ve %9'unu TG oluşturur. Kolesterol içeriği en yüksek olan lipoprotein olup, asıl apoproteini apo B-100'dür. Her LDL partikülü bir molekül apo B-100 içerir. Dolayısıyla plazmadaki ölçümü aterojenik lipoprotein partiküllerinin bir ölçütü olup, aterosklerozun göstergesi olarak kabul edilmektedir (140, 141). LDL tüm dokulara kolesterolü taşıyan asıl lipoproteindir. LDL-kolesterol, total plazma kolesterolünün yaklaşık 2/3'ünü oluşturur. Çok düşük yoğunluklu lipoprotein'nin (VLDL) önce ara yoğunluklu lipoproteine (IDL), sonra da LDL'ye dönüşmesiyle partikülün plazmada kalma süresi birkaç saatten 2,5 güne çıkar. Uzun ömürlü bir partikül olması LDL'nin dokular için kolesterol kaynağı olarak işlev görmesini sağlar (142, 143). LDL'nin hücre içine alınması reseptör aracılığı ile gerçekleşen endositoz ile sağlanır. LDL alımının %65'i karaciğer tarafından bu mekanizma ile gerçekleştirilir. Plazma LDL konsantrasyonunun yükselmesiyle hücreler daha fazla miktarda LDL'yi hücre içine alırlar (141). Dolaşımdaki makrofajlar, yüksek düzeyde çöpçü reseptör aktivitesine sahiptirler. Bu reseptörler, kimyasal olarak değişikliğe uğramış LDL'nin endositozuna aracılık edebilir (144).

### **2.2.13. Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL)**

En küçük molekül, en yüksek oranda protein içeren lipoproteindir. %50'si protein, %30'u fosfolipid, %20'si kolesterolden oluşur. Apo AI ve apo AII HDL'nin temel apoproteinleridir. HDL ayrıca apo C ve özellikle apo E içermektedir (140, 141, 145). Diskoid yapıda olan HDL partikülü ekstrahepatik dokulardan ve damar endotelinden, lesitin kolesterol açiltransferaz (LCAT) aktivitesiyle serbest kolesterolü alır, HDL'de, ester kolesterol oranı arttıkça, LCAT aktivitesi inhibe olur. LCAT yetmezliğinde HDL konsantrasyonu azalır (146, 147). HDL'nin bu özelliği nedeniyle ateroskleroza karşı koruyucu olduğu sanılmaktadır. Kolesterol esterlerinin hidrolizi ile açığa çıkan serbest kolesterol, lipoproteinlerin sentezinde kullanılır, safra asitlerinin yapısına katılır veya safraya sekrete edilerek vücuttan uzaklaştırılır (143, 148). Apo A I ve apo A II, HDL metabolizmasının düzenlenmesinde görev alır. Apo AI eksikliğinde HDL katabolizması daha hızlıdır ve çok genç yaşta KAH görülür (149). Ancak apo AII'nin normal katabolizması için de apo AI gereklidir. Apo AI Milano mutasyonu olan insanlarda, HDL-k seviyesi düşük olduğu halde, KAH daha düşük oranda görülmektedir (150). HDL ve apo AI, gelişmiş vasküler reaktivitede gerileme sağlar. Bu etki HDL ve apo AI'nin ters yönde kolesterol taşınmasını arttırmasına bağlanmaktadır. Apo AI, Ateroskleroz'un inflamasyona cevabı olan LDL oksidasyonunu önlemek üzere, LDL'den bu potansiyeldeki



molekülleri uzaklaştırır. Apo AII'nin ise, lipid peroksitlerinin oluşumu üzerinde önleyici etkisi gösterilememiştir (151, 152). İnsan deneyleri sonucuna göre, HDL öncüllerinin üretimi arttıkça, ters kolesterol taşınımı artar ve aterogenez oranı azalır (153).

#### **2.2.14. Arterioskleroz ve paraoksonaz arasındaki ilişki nedir?**

Son yıllarda yapılan çalışmalar, HDL'nin üzerinde bulunan  $Ca^{+2}$ 'a bağlı enzim olan paraoksonazın, okside olmuş lipidlerin metabolizmasında ve arteriosklerozdan korumada önemli fizyolojik rolü olduğu yönündedir. Mackness grubu heterozigot familial hiperkolesterolemi ve diabetli hastalarda genetik değişiklikten bağımsız olarak kontrolden düşük PON aktivitesi saptamıştır (154). Fish eye ve Tangier hastalığı olanlarda ise çok düşük, saptanamayacak düzeyde PON aktivitesi ile karşılaşmıştır. Bu hastalıklarda arterioskleroz gelişimine yatkınlıktaki artış, yine PON-arterioskleroz ilişkisini ve olasılıkla HDL'nin anti aterojenik özelliklerinde PON'un önemini ortaya koymuştur. Mackness, serum PON'un arteriosklerozis sürecinin başlangıç evresi olan LDL fosfolipitlerinin oksidasyonuna karşı korunmasında önemli olduğunu ilk gösteren araştırmacıdır (106). Mackness ve ark. yaptığı çalışmada insan serum PON'da LDL fosfolipit oksidasyonuna karşı oksidasyonu katalizleyen bakır iyonları kullanmıştır. Sonuç olarak HDL'nin bakırla inkübe edilen LDL'de lipit peroksit oluşumunu % 90 inkübe ettiğini, HDL'den saflaştırılan PON'un TBARS düzeylerini ve lipoperoksit oluşumunu önlediğini gösterdi (114). PON 1'in LDL'nin yanı sıra lipit peroksitlerin taşıyıcı HDL'i de koruduğu, böylece makrofajlardan kolesterol çıkışındaki etkinliğini arttırdığı tanımlanmıştır. HDL'deki PAF-AH, LCAT gibi diğer enzimlere göre PON'un lipit peroksitleri hidroliz etmede daha güçlü olduğu bilinmektedir. PON1, lipit peroksitlerin yanı sıra hidrojen peroksit üzerine de etkilidir. Arterogenez sırasında arter duvar hücrelerince üretilen major toksik oksijen metaboliti olan hidrojen peroksit, oksidatif koşullarda daha potent ürünlere dönüşerek LDL oksidasyonuna neden olur. PON'un oksitlenmiş LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitler ve hidroksitleri indirgemesi nedeniyle peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu düşünülmektedir (106, 114). LDL oksidasyonundan korumasında ve LDL oksidasyonuyla oluşan toksik metabolitlerin aktivitesinin azaltılmasında, HDL ile ilişkili olan PON'un HDL üzerine katalizör etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Saflaştırılmış PON'un HDL oksidasyonu üzerine, konsantrasyon bağımlı inhibitor etkisi gözlenmiş, serumda PON miktarının artması HDL'nin oksidasyona karşı direncini arttırmıştır. HDL'nin oksidasyona yatkınlığı, PON inhibitörleri ile ön muamele

edildikten sonra artmıştır. PON inhibitörlerinin serum PON aktivitesini azalttığı ve HDL'nin oksidasyonunu arttırdığı gözlenmiştir. HDL-PON kompleksi veya saflaştırılmış PON'un LDL oksidasyonu üzerine olan inhibitör etkisinin, metal iyon şelasyonu veya peroksidaz benzeri aktiviteden kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayrıca, deneysel çalışmalara göre PON1, KAH riskini ve arterosklerotik lezyon ilerlemesinde gerekli proinflamatuvar molekülleri yıkarak azaltır. Paraoksonaz, LDL'nin oksidasyonu ile oluşan proinflamatuvar moleküllerini parçalanmasıyla vasküler hastalık riskini azaltabilir. Örneğin; invitro'da saflaştırılmış paraoksonaz, vasküler hücre kültür sistemi içinde okside olmuş LDL'nin proinflamatuvar etkisini bloke eder. PON ve apo AI arasındaki yakın ilişki, bu iki proteinin doğrudan bağlandığını düşündürür. Aterosklerotik apo E eksikliği oluşturulan fareler üzerinde yapılan çalışmada, serum PON aktivitesi ve serum lipidlerinin oksidatif düzeyi arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Apo E eksik olan farelerde hızlı arteroskleroz oluşumu ve oksidatif stres artışı belirgin olarak gözlenmiştir. Benzer şekilde, aterojenik diyet uygulanan fareler üzerinde yapılan çalışmada, farelerin serum PON düzeyleri baskılanmış, oksidasyonuna karşı savunma yeteneğini kaybetmiş ve kısmen okside olmuş LDL'nin bu farelere enjeksiyonu serum PON aktivitesini belirgin şekilde düşürmüştür. İnsan PON1 geninde kodon 192'de DNA polimorfizmi KAH için risk faktörüdür. Mackness ve ark., B allelin KAH için bağımsız risk faktörü olduğunu ileri sürmüşlerdir (154). Çalışmalarında iki allosimin LDL üzerindeki lipit peroksitlerin birikimini önleme yeteneğinde bireysel farklılıklar yaratan temel elemanlar olduğunu ortaya koymuştur. Mackness, A genotip PON içeren HDL'nin AB ve BB genotipine göre LDL'yi bakırla indüklenen oksidasyona karşı korumada daha etkili olduğunu göstermiştir. PON AA homozigotlar LDL'yi oksidasyondan korumada daha etkindir, lipit peroksitleri metabolize etme aktivitesi yüksektir. PON1 geninde tanımlanan 55. pozisyondaki M-L polimorfizminde HDL'nin LDL'yi oksidasyondan korumadaki etkisinde MM varyantının en etkin olduğu ve bu bireylerin KAH gelişimine en az yatkın olduğu saptandı (106). Yalnız, PON1 aktivitesinin 55-192 polimorfizminden bağımsız olarak 40 kat fazla olabileceği ve bunun sebebi olarak, kazanılan faktörlerin HDL'nin lipid çevresinin içeriğine etkisi (PON1'in işlevi), PON1 geninin promotor bölgesi veya henüz tanımlanamayan başka etkiler sonucu olabileceği düşünülmektedir. PON1 aktivitesi KAH hastalarında direk olarak ölçüldüğünde, hastalık taşımayan kontrollerin yarısı kadar olduğu gözlenmiş ve bu ölçümlerin, MI geçirmiş hastaların kardiyak iskemik göğüs ağrısından birkaç saat sonraki ölçümleri olmasından dolayı, düşük serum PON1 aktivitesinin olaydan önce meydana gelebileceği tahmin edilmiştir. Düşük serum PON1 aktivitesinin genotipten bağımsız olduğu

linik ve deneysel DM, hiperkolesterolemi ve böbrek yetmezliği gibi KAH ile ilişkisi bilinen çeşitli hastalıklarla belirtilmiştir (155).

### **2.2.15. PON1 ve Oksidatif Stres**

PON1'in, LDL'nin hücre kaynaklı oksidasyonuna karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (80). PON1'in bunu nasıl yaptığının mekanizması tam olarak açıklanamamasına rağmen çalışmalarda PON1'in antioksidan kapasitesinde 284. pozisyondaki serbest sisteyinin rol oynadığı bildirilmiştir . Aviram ve ark. yaptığı bir çalışmada sistein 284'de mutasyon olan PON1'in LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu olmadığını göstermişlerdir (120).

HDL bağımlı PON1'in yalnız LDL oksidasyonunu değil, aynı zamanda HDL oksidasyonunu da engellediği gösterilmiştir. Bu etki PON1'in lipoprotein aracılı peroksitleri hidroliz edebilme özelliğine bağlıdır. PON1 lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksitlerinde ve kolesterol ester peroksitlerinde bulunan O ve P arasındaki ester bağını hidroliz edebildiği gösterilmiştir (156).

Paraoksonazın fosfotidilkolinleri hidroliz etme kapasitesi, okside LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri ve hidroksitleri indirgemesi nedeni ile peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu bildirilmiştir (157). LDL üzerine PON1'in antioksidan etkisi endotel hücrelerine monosit adezyonunu ve okside fosfolipidlere bağlanan makrofaj kemotaksisini azalttığı bildirilmiştir (158). Yapılan alışmalarda Paraoksonaz düzeyi ile oksidatif stres arasında karşılıklı bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (159).

### **2.2.16 Diabet ve Oksidatif Stres**

Diabette reaktif oksijen türlerinin rolü 1980'li yıllardan beri geniş çapta tartışılan bir konu olmuştur . Diabet ve diabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (160).

Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitenin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir. Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (160).

Hidrojen peroksidin, yüksek reaktiviteye sahip bir ROS ürünü olan OH radikaline dönüşmesi sonrası insülin reseptör sinyal sistemi üzerinde etkili olduğu ve insülin tarafından reseptör aracılığı ile düzenlenen sinyal transdüksiyon yollarında anahtar bir rol oynayabileceği görüşü araştırmacıların savları arasında bulunmaktadır. Glikasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen transkripsiyonunu azalttığını ve beta hücre apoptozuna yol açtığını gösteren çalışmaların bulguları bu görüşü destekler niteliktedir. T ve B lenfositlerin, makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerin beta hücrelerine toksik etkilerini de serbest radikaller aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir. Diabet oluşturulan rat deney modellerinde oksidatif stres belirteci olarak değerlendirilen 8-OHdG (8-hidroksi deoksiguanozin) düzeylerinde de artış gözlenmiştir. Serbest radikal oluşumunun hipergliseminin direkt sonucu olduğunu destekleyen çalışmaların yanı sıra endotel ve düz kas hücreleri yüksek konsantrasyonda glukoz içeren ortamda inkube edildiğinde de serbest radikal oluşumunun başladığı gözlenmiştir (160).

Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında yakın ilişki olduğu görüşü in vivo çalışmalar ile de desteklenmiştir. Deneysel hayvan çalışmalarında insanlardakine benzer diabet oluşturmak için kullanılan N- nitroso türevi D-glukozamin yapısındaki streptozotosin, oksidan maddeler meydana getirerek langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip etmekte ve uygun olmayan NO cevapları vererek diabeti başlattığı düşünülmektedir.

Araştırmacıların bulguları, vasküler komplikasyonları olan diabetik hastalarda, hem LDL'nin oksidasyonunda hem de nonenzimatik glikasyonunda, hiperglisemiye bağlı artışlar olduğunu göstermektedir. Diabetik olgularda, lipidlere ilave olarak protein oksidasyonu da artmaktadır. Özellikle kollajen, elastin ve myelin kılıfındaki ekstrasellüler proteinlerin oksidasyonu sonucu; lens, damar, bazal membran gibi dokularda katarakt, mikroanjyopati, ateroskleroz ve nefropati gibi diabetik komplikasyonlar gelişmektedir (160).

### 2.3. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelmesine sebep olurlar. Bunlar enzimatik ve nonenzimatik antioksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır. Bazı durumlarda oksidanlardaki artış ve antioksidanlarda azalma önlenemez. Oksidan/antioksidan denge, oksidatif taraf lehine kayar. Sonuç olarak, 100' den fazla hastalığa neden olan oksidatif stres meydana gelir (161). Oksidatif stresin rol oynadığı düşünülen süreçler (162, 163):

- Sigara içimiyle ilişkili hastalıklar
- Nörodejeneratif süreçler
- Sistemik amiloidoz
- Romatoid artrit
- Respiratuar distress sendromu
- Kardiyovasküler hastalıklar
- Obezite
- Ateroskleroz
- Diyabetes mellitus
- Multipl skleroz
- Yaşlanma
- Gastrik ülser
- Katarakt

Aerob organizmalar hayatta kalabilmek için kendilerini oksijen toksisitesinden koruyan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bu organizmalar ayrıca oksijeni ( $O_2$ ), enerji üretiminde (aerob hücreler için gerekli olan ATP'nin %80' ininin üretildiği mitokondrial elektron transport zincirinde; oksijen ( $O_2$ ), son elektron alıcısıdır) ve metabolik transformasyonlarda (oksidaz, hidroksilaz enzimleri örnek; sitokrom p450) kullanma yolları geliştirmiştir. Yani aeroblar, bir yandan kendilerini  $O_2$ 'nin zararlı etkilerinden korurken bir yandan da hayati fonksiyonlarında  $O_2$ 'den oldukça faydalanmaktadır. Ancak, aeroblar

kendilerini sadece havadaki %21'lik O<sub>2</sub>'den koruyabilen antioksidan savunma mekanizmalarına sahip oldukları için, daha yüksek konsantrasyonlardaki O<sub>2</sub> organizmaya zarar vermektedir (164).

### 2.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren reaktif moleküllerdir. Oksijen türevi radikaller, biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Aşırı oluştuklarında hücre ve dokuların hasarına neden olurlar. Yapılarındaki ortaklanmamış elektrolitlerden dolayı oldukça reaktiftirler ve tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliği gösterirler (165, 166).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

- 1- Kovalent bağlı radikal olmayan bir molekülün bağlarının koparılması ile iki ayrı radikal oluşumu ile,
- 2- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün bölünmesi ile,
- 3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile.

Organik veya inorganik moleküller, elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü, nötral şekilde olabilirler. Oksijen atom numarası 8 olan, doğada dioksijen olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir. Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdaki kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta non radikal yapıyı radikal bir şekle dönüştürebilirler (165).

**Tablo 7.** Oksijen türevi bileşikler

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil ( $\text{HO}^\cdot$ )	Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )
Alkoksil ( $\text{RO}^\cdot$ )	Singlet Oksijen ( $\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$ )
Peroksil ( $\text{ROO}^\cdot$ )	Ozon ( $\text{O}_3$ )
Süperoksit ( $\text{O}_2^\cdot$ )	Hipoklorid ( $\text{HOCl}$ )
Nitrik oksit ( $\text{NO}^\cdot$ )	Lipidhidroperoksit( $\text{LOOH}$ )
Azot dioksit ( $\text{NO}_2^\cdot$ )	Peroksinitrit ( $\text{ONOO}^\cdot$ )

### 2.3.2. Süperoksit Radikali ( $\text{O}_2^\cdot$ )

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit radikali hasarlandırıcı özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup  $\text{H}_2\text{O}_2$  kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır (166, 167). Daha sonra bu radikaller, Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e dönüşür.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in kendisi serbest radikal olmasa da en reaktif serbest radikal türlerinden hidroksil radikaline ( $\text{HO}^\cdot$ ) otooksidasyon yolu ile dönüşebilir.

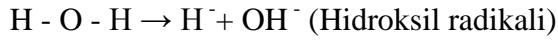
### 2.3.3. Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla olabilir.  $\text{H}_2\text{O}_2$  membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir.  $\text{H}_2\text{O}_2$  özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilmektedir. Bu formdaki

demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (166, 168)

#### **2.3.4. Hidroksil Radikali (HO<sup>·</sup>)**

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından emilir ve radyasyon oksijen ve hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H<sup>·</sup>) ve diğeri ise hidroksil radikali (HO<sup>·</sup>).

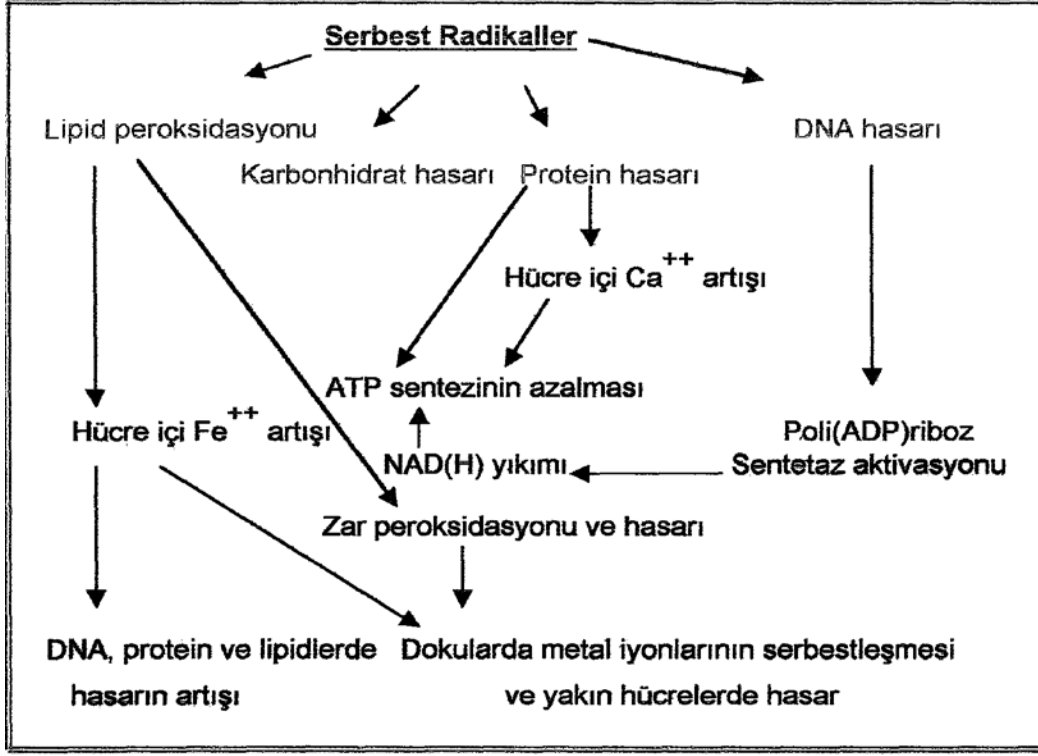


Yine OH<sup>·</sup> leri aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA' da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Bir dizi reaksiyona katılabilen OH<sup>·</sup> radikalleri DNA' nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücre sel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda çeşitli mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (169).

#### **2.3.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri**

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller geçirgenliği bozarak, bir yandan hücrenin potasyum kaybına neden olurken öte yandan trombosit agregasyonunu arttırmırlar (şekil 13) (170).





Şekil 13. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları (170)

### 2.3.5.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)

Lipidler, serbest oksijen radikallerine karşı en hassas olan vücut bileşenleridir. Membrandaki kolesterol ve doymamış yağ asitleri, serbest radikaller tarafından kolayca perokside edilirler ki bu hasar geri dönüşümsüzdür. Hasar ile membran geçirgenliğinin değişmesi, anormal kalsiyum iyonu girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyon ile fosforilasyonun ayrılmasına neden olur. Ayrıca ortamdaki demir ve bakır gibi metal iyonları, lipid peroksidasyonunun sitotoksik ürünlere dönüşümünü hızlandırır.

Lipid hiperoksidleri yıkımı ile biyolojik olarak aktif olan aldehydler oluşur ki bu maddeler, hücre içine yayılarak, hasarın hücrenin diğer bölümlerine de yansımaya neden olurlar. Lipid peroksidasyonunun sonunda MDA oluşur. Oluşan MDA, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirerek mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkilere yol açabilir (171).

### **2.3.5.2. Proteinlere Etkisi**

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır (172):

- 1- Aminoasitlerin modifikasyonu,
- 2- Proteinlerin fragmentasyonu,
- 3- Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır

Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler. Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O<sub>2</sub> veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (171).

### **2.3.5.3. Nükleik Asitlere Etkileri**

Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir.

Oksijen radikalleri, oksidatif yarımla ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinlerden olan timin en hassas yapıdır. DNA hatatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde oranın yüksek olduğu bildirilmektedir (173).

#### **2.3.5.4. Karbonhidratlara Etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu katarakt, diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıkların, inflamatuvar eklem hastalıklarının oluşumuna katkıda bulunabilirler (165).

#### **2.3.6. Antioksidan Mekanizmalar**

Yükseltenebilir bir substratla (protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler) karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu zaman o substratın oksidasyonunu belirgin biçimde geciktiren/önleyen maddeye antioksidan denir (174). İkinci bir tanıma göre diyetsel antioksidan normal fizyolojik fonksiyonların varlığında reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi reaktif türlerin yan etkilerini belirgin biçimde azaltan ve yiyeceklerde var olan maddeler olarak tanımlanır (175). Ancak bu tanım yeniden gözden geçirilmiş ve genişletilerek membran stabilitesini devam ettirme özelliğinin de antioksidanların fonksiyonlarından biri olduğu belirtilmiştir (176).

Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini aşağıdaki yollarla gösterebilirler:

- 1- Hasarlı hedef moleküllerin yerini alarak,
- 2- Reaktif oksijen türleri oluşumunu minimumda tutarak,
- 3- Hasarlı hedef molekülleri onararak,
- 4- Yüksek derecede reaktif türlerin oluşumunda görev alan metal iyonlarını bağlayarak,
- 5- Reaktif türleri enzim kullanarak yahut bizzat kendisinin yer aldığı reaksiyonlarla temizleyerek (177).

Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise; bilirubin, albümin, ürik asit,  $\alpha$ - tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin,

transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (178, 179).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (180).

### **2.3.6.1. Enzim Olan Antioksidanlar**

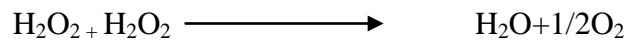
#### **2.3.6.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

SOD enziminin bakır-çinko, mangan ve demir içeren üç tip izoenzimi bulunur. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn-SOD sitoplazmada, mangan içeren Mn-SOD mitokondride aktivite gösterir. Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD aynı mekanizma üzerinden etki gösterirler ancak Mn-SOD pH 7'nin üzerinde aktivitesini kaybederken Cu-Zn-SOD' un aktivitesi pH 5.5-10 aralığında değişmez.

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen peroksite çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, fanconi anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD' ın ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (181).

#### **2.3.6.1.2. Katalaz**

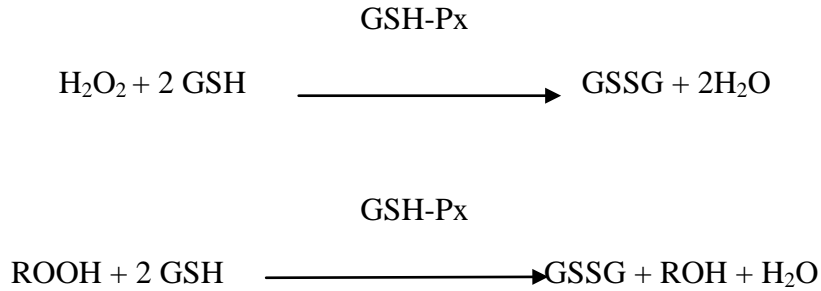
Katalaz enzimi hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizler. Enzim hücre içinde peroksisomlarda yerleşmiştir ve bir hemoproteindir. Dört tane hem grubu içerir. Katalaz'ın etkisi de SOD'a benzerdir.



Bu reaksiyon  $H_2O_2$  konsantrasyonları yükseldiğinde önem kazanırken düşük  $H_2O_2$  konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar  $H_2O_2$ 'lerin daha az reaktif olan alkollere ve suya parçalanmasını katalizler. Kanda, böbrek ve karaciğerde ayrıca mukoz membranlarda bulunur. Granülomatoz hücreleri solunumsal patlamaya karşı korur (176).

### 2.3.6.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, pek çok hücrenin sitozollerinde bulunan bir enzimdir ve hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Sitozol ve mitokondrielerde SOD tarafından oluşturulan  $H_2O_2$  ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Düşük  $H_2O_2$  konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır.



Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (181).

GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma,  $H_2O_2$ 'in artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı GSH-Px ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (182).

#### 2.3.6.1.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST)

Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir.



Antioksidan aktivitesine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadır (181).

#### 2.3.6.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indirgenmesi esnasında GSH oksitlenir. Glutasyon peroksidazın fonksiyonunun devamlılığı için okside glutasyon tekrar indirgenmelidir. Reaksiyon GSH redüktaz tarafından katalizlenir. Enzim NADPH bağımlı bir flavoproteindir (181).



#### 2.3.6.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Süperoksit anyonunun suya dönüştüğü reaksiyonu katalizler. Bakır içerir. Mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alır.

#### 2.3.6.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

##### 2.3.6.2.1. Glutasyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen ve hücrede en fazla tiyol içeren bileşiktir. GSH sentezinde kullanılan sisteinin kaynağı N-asetilsisteindir. Glutaminin glutaminaz ile hidrolizi ve α-ketoglutarat ile dallı zincirli aminoasitlerin transaminasyonu GSH sentezinde kullanılan glutamatın temel kaynaklarıdır. GSH' dan kaynaklanan glutasyon

radikali ( $GS^-$ ) bir prooksidandır. Ancak iki  $GS^-$  birleşerek okside glutatyonu (GSSG) oluştururlar bu da GSH redüktaz tarafından GSH'ya indirgenir. Doğrudan veya dolaylı yollarla reaktif oksijen türlerini temizler. Hücrel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan tiyol proteinleriyle etkileşime girer (183).

#### **2.3.6.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)**

C Vitamini pek çok biyolojik fonksiyon için gerekli suda çözünebilir bir mikronütrienttir. Birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapar. Bunlar; kollajenin post-translasyonel hidroksilasyonu, karnitin biyosentezi, dopaminin norepinefrine dönmesi, peptid amidasyonu ve tirozin metabolizmasında görev alan enzimlerdir.

Anti-skorbutik fonksiyonu yanında C vitamini potent bir indirgeyici ajan ve biyolojik sistemlerde serbest radikal toplayıcısıdır (184). Biyolojik sıvılarda en çok bulunan ve suda çözünen bir antioksidandır. Süperoksit, hidroperoksit radikalleri ve singlet oksijen ile peroksinitrit, nitrojen dioksit ve nitroksit radikallerini toplayabilme özelliğine sahiptir. Paradoksik olarak C vitamini in vitro koşullarda bir prooksidan gibi davranabilir. C vitamininin demir ve bakır ile birlikteliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif modifikasyonunu indüklemek için kullanılmaktadır (174). C vitamini oksidatif strese ferrik demiri ferroz demire indirgeyerek ve sonrasında  $H_2O_2$ 'in hidroksil radikaline dönüşümünü sağlayarak neden olabilir. Ancak genel olarak bu C vitamini aracılı Fenton reaksiyonları insanda ferritin ve transferin gibi metal bağlayıcı proteinlerin etkin demir sekestrasyonu sayesinde kontrol edilir. Prooksidan etkinin in vivo koşullarda gerçekleşip gerçekleşmediği net değildir (174, 185). İnsan plazmasının in vitro inkübasyonu yöntemiyle yapılan çalışmalar C vitamininin aktive redoks geçiş metalleri ve  $H_2O_2$  eklenmesi durumunda bile lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermiştir (186).

Plazma askorbik asit havuzunda sigara kullanımıyla ilişkili düşüş ilk olarak 1930' larda tanımlanmıştır (208). Sonraki çalışmalarda da sigara içenlerde içmeyenlere göre plazma, serum, lökosit, C vitamini konsantrasyonlarının yaklaşık olarak %40 daha düşük olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Son çalışmalarda sigara içen erkek ve kadınlarda plazma, lökositler ve idrarda gözlenen düşük askorbik asit konsantrasyonlarının nötrofillerin aktivite ve sayılarında artışla ilişkili olduğu bunun da C vitaminin artmış kullanımı, düşük alımı veya azalmış biyoyararlılığıyla açıklanabileceği söylenmiştir (188).

### **2.3.6.2.3. Vitamin E (Tokoferol)**

Alfa tokoferol yağda çözünen lipit zincirini kıran bir antioksidandır. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Çok güçlü bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal ataklarına karşı korur, oluşan radikalleri temizler, lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Askorbik asit E vitaminin etkisini artırır. E vitamini ve GSH-Px serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini, sentezlerini engeller iken GSH-Px, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (189).

### **2.3.6.2.4. β Karoten**

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü bir oksijen temizleyicisidir. Serbest radikalleri direkt olarak yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (190).

### **2.3.6.2.5. Seruloplazmin**

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer.

### **2.3.7. Total Antioksidan Kapasite**

Antioksidan savunma sistemleri, özgül etkiler dışında bir ortak etkiler ve ilişkiler ağı oluşturur. Örneğin; vitamin C ve glutatyon, vitamin E' nin rejenerasyonunu sağlayarak; ürik asit, vitamin C' nin otooksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki gösterirler. Böylece antioksidan durumu göstermede tek tek antioksidan ölçümü yanında değişik antioksidanları ortak etkilerinin ölçümüne yani "total antioksidan kapasite"nin bilinmesine ihtiyaç doğar.



Sonuçta plazmanın total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir (191).

### **2.3.8. Oksidatif Stres**

Organizmada normal şartlarda da oluşan serbest radikal üretimi, değişik savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılır. Bu nedenle patolojik bir durum oluşmaz. Serbest radikal oluşum hızı ve serbest radikal miktarı savunma mekanizmalarının gücünü aştığı zaman oksidan stres ortaya çıkar. Sonuç olarak serbest radikallerinin hücre fonksiyonlarına net etkisi, radikal ürünleri ile koruyucu sistemler arasındaki dengeye bağlıdır.

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (192).

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk yenidoğan servisi, çocuk acil servis ve polikliniği, çocuk yenidoğan polikliniği, Kadın hastalıkları ve doğum servisinde 01.03.2012 - 25.09.2012 tarihleri arasında başvuran veya doğan, çalışma kriterlerini sağlayan Diabetik Anne çocuğu tanısı almış 58 yenidoğan ve kontrol grubu olarak 45 sağlıklı annelerden doğan sağlıklı yenidoğanlar çalışmaya alındı. Çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunun onayı ve çalışmaya alınan her çocuk için yasal velilerinden “bilgilendirilmiş olur formu” alındı.

Hastaların tanı anında anne yaşı, baba yaşı, cinsiyet, boy, kilo, baş çevresi, bebeğin yaşı, annenin gebelik sayısı, annenin diabet tipi, gestasyonel diabetes mellitus için Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT), gebelikte anneye uygulanan tedavi, annenin HgbA1c düzeyi sonuçları kaydedildi. Kontrol ve çalışma grubu 1-3 günlük olan bebekler olarak seçildi.

Bebeklerin doğum kilo tespiti için 10 gram hassasiyeti olan MedikaPlus marka bebek terazisi kullanıldı. Bebeklerin baş çevresi ve boy uzunluklarının ölçümü için 0,5 cm hassasiyeti olan esneme özelliği olmayan mezura kullanıldı.

Kontrol grubu, gebelik öncesinde ve gebelikte sağlıklı annelerden doğan, sağlıklı yeni doğanlar öykü ve fizik muayene ile şikayet ve hastalık durumları bulunmayan, aynı yaştaki bebeklerin prematüre veya düşük doğum ağırlıklı olmamasına dikkat edilen yenidoğanlardan seçildi.

Çalışma grubuna alınma kriterleri:

1. Miadında ( gestasyon yaşı 38-42 hafta )
2. Doğum kilosu 2500 gram‘ dan düşük olmayan
3. Postnatal 1-3 günlük
4. Diabetik anne çocuğu haricinde başka bir hastalığı olmayan
5. Doğumda apgar skoru 1-5 dakikada 8 ve üzeri olanlar.

Çalışmadan çıkarılma kriterleri:

1. Preterm bebekler, 2500 gramın altında doğum ağırlığı olanlar.

2. Septisemi, dehidratasyon, akciğer hastalığı, hipoksi-anoksi, doğumsal anomali, kromozom anomalisi, metabolik hastalık, sefal hematoma, ekimoz, sistemik hastalık, ilave enfeksiyon veya değişik klinik patolojiler nedeniyle serbest radikal oluşumuna neden olabilecek hastalık bulguları saptanan hastalar çalışmaya alınmadı.

Yenidoğanların plazma paraoksonaz/ariesteraz aktivitesi, HDL, LDL, TAS ve TOS düzeyleri ölçümü yapılması için jelli tüpler kullanıldı. Ayrılan periferik venöz kan örnekleri 3500 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplere konuldu. Serum örnekleri  $-80^{\circ}\text{C}$ ' de derin dondurucuda saklandı. Çalışma günü hasta ve kontrol grubu örnekleri derin dondurucudan alınarak tüm serum örnekleri oda ısısına getirildi. Adı geçen testler toplu olarak bir defada laboratuvarında çalışıldı. Çalışma yöntemleri aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

### **3.1. Yöntem**

#### **3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TAS)**

Örneklerin total antioksidan status (seviye) düzeyi (TAS), Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir methoddur (140). Ölçüm yöntemi, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS\* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikali antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Ekv/L olarak ifade edildi (126).

#### **3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TOS)**

Örneklerin total oksidan status (TOS) düzeyi, Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup, testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır. Kalibratör olarak Hidrojen Peroksit kullanılır. Sonuçlar  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Ekv./L olarak ifade edilir (126).

Prensip: örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferik iyonu oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

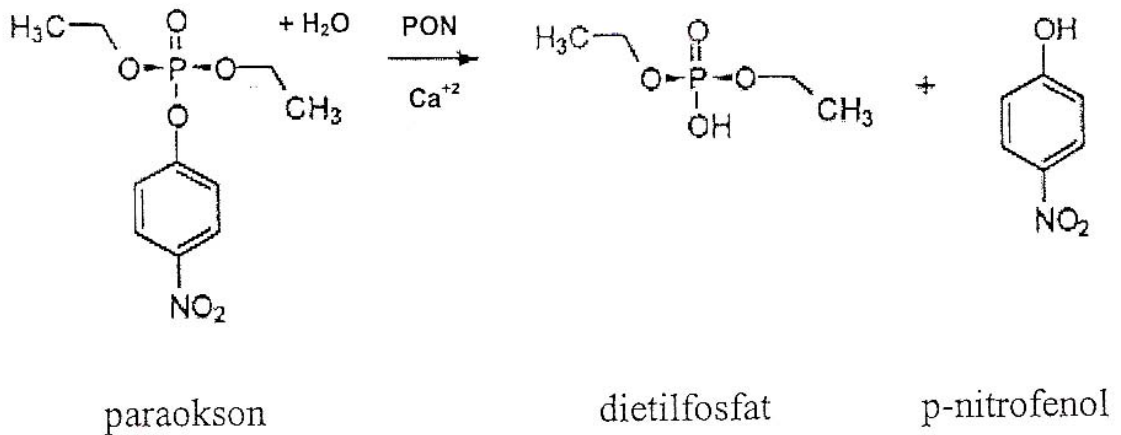
### 3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ)

Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSİ), örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeylerinin, örneklerin toplam antioksidan status (TAS) oranına yüzdesi olarak belirtilir. Hesaplama önce TAS testinin birimindeki mmol değeri TOS testindeki gibi mikromol birimine çevrilir. Sonuçlar Arbitrary Units olarak ifade edildi (126).

### 3.1.4. Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü

Paraoksonaz aktivitesi, Furlong (193, 194) ve Mackness' in (80) metodları kullanılarak ölçüldü. Paraoksonaz'ın katalizlediği reaksiyon aşağıda görüldüğü gibidir.

Aril dialkil fosfat + H<sub>2</sub>O → Dialkil fosfat + aril alkol



Paraoksonaz enzim aktivitesi ölçümünde substrat olarak paraokson (0,0- diethy -0-pnitropheny phosphate), arilesteraz ölçümünde ise substrat olarak fenil asetat kullanılmıştır. Paraoksonaz aktivite ölçümünde 5 mM CaCl<sub>2</sub> ve 7 mM paraokson ihtiva eden pH=8 olan 100

mM Tris-HCl tamponu kullanıldı ve Reaktif 1 (R1) olarak kabul edildi. Numune hacminden 10µL reaktif 1'den 220µL alınarak abbott aeroset otoanalizör cihazına tatbik edilerek çalışıldı. Paraoksonaz'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenol'ün 412 nm deki dakikalık absorbans oluşumu kaydedildi. Molar absorpsiyon katsayısı 18290 (ε) alınarak (193, 194) aktivite için 1 ünite, 1 mikromol p-nitrofenol/ml serum/dk olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{IU / lt } (\mu\text{mol /dk/L}) = \frac{\Delta A/\text{dk} \times \text{T.V (ml)} \times 10^6}{\epsilon \times \text{Işık yolu} \times \text{N.V (ml)}} = \frac{\Delta A/\text{dk} \times (\text{T.V} \times 10^6)}{\epsilon \times \text{Işıkyolu} \times \text{N.V}}$$

A: Absorbans

ΔA/dk : Dakikalık absorbans artışı

T.V: Deney tüpündeki toplam sıvı miktarı

106: Sonuçları µmol /dk/L = U/L'ye çevirme katsayısıdır.

ε : Ekstinsiyon katsayısı: Reaksiyon sonunda okunan maddenin molar absorbtivite katsayısı olup sabit bir değerdir.

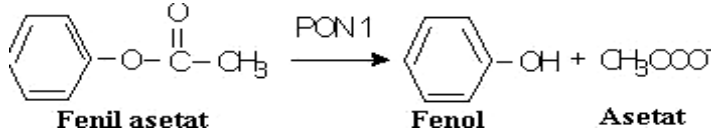
ε = A/l x C'dir. A= çözeltinin gerçek absorbansı, l= ışık yolu (cm), C= çözeltinin konsantrasyonu (mol/L) dir.

Işık yolu: Okuma küvetinin çapı (cm cinsinden)

N.V: Reaksiyona katılan numune hacmi.

## **Ariesteraz Aktivitesinin Ölçümü**

Ariesteraz aktivitesi ölçümleri için ise 2 mM CaCl<sub>2</sub> ihtiva eden 100 mM Tris-HCl; pH=8 tamponu kullanılarak; substrat olarak paraokson yerine son konsantrasyonu 13 mM olacak şekilde fenilasetat ilave edilmistir ve ariesteraz'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenol 270 nm de Jasco V-530 UV/VİS spektrofotometresinde dakikalık fenol oluşum absorbansı ölçülmüştür. Molar absorpsiyon katsayısı 1310 (ε) alınarak ariesteraz aktivitesi için 1 ünite, 1 mikromol fenol/ml serum/dk. olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada numune volümü 400 kat dilüe edilerek çalışılmıştır. Sonuçlar yine paroksondaki enzim aktivitesi formülüne göre hesaplandı ve U/L olarak değerlendirildi. Reaktif 1 tekrar hazırlanıp fenotipik ayırım için içerisine 1M NaCl ilave edilerek paraoksonaz ve ariesteraz aktivitesi için tekrar çalışıldı. Sonuçlar yine yukarıdaki gibi hesaplandı.



Serum total Kolesterol, HDL-Kolesterol, LDL-Kolesterol ve Trigliserit Roche marka kitlerle, Roche marka cobas integra 1800 cihazı ile kolorimetrik olarak ölçüldü. Serum VLDL-K seviyesi hesaplanarak bulundu.

### 3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 11,5 programı (SPSS for Windows, 11.5 SPSS Inc., USA) kullanıldı. Bu program kullanılarak gerekli istatistiksel analizler ve şekiller yapıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirtildi ve  $p > 0,05$  anlamsız,  $p < 0,05$  değeri anlamlı,  $p < 0,01$  çok anlamlı,  $p < 0,001$  ileri düzeyde anlamlı kabul edildi. Gruplarda dağılım testi Kolmogorov-Smirnov testi ile yapıldı. Grupların arasındaki farkı değerlendirmek için student t-test, Mann-Whitney U testi ve ki-kare testi kullanıldı. Parametrelerin arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ise Spearman korelasyon analizi yapıldı.

#### 4. BULGULAR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve hastalıkları yenidoğan servisi, yenidoğan polikliniği, çocuk acil polikliniği ve Kadın Doğum Hastalıkları kliniğine başvuran 58 Diabetik Anne bebeği tanısı alan hastalar ile Kontrol gurubu için 45 normal sağlıklı annenin sağlıklı bebekleri çalışmaya alındı. Çalışmaya hasta gurubunda 31 erkek, 27'si kız toplam 58 hasta alındı. Erkek/Kız oranı 1,1:1 olarak bulundu. Kontrol grubu 24'ü erkek, 21'i kız toplam 45 sağlıklı bireyden oluştu. Erkek/kız oranı 1,1:1 idi. Kilo değeri hasta ve kontrol grubunda sırasıyla  $3713,17 \pm 460,89$  gram,  $2956,77 \pm 184,48$  gram,  $p < 0,0001$  bulundu. Boy değeri hasta ve kontrol grubunda sırasıyla  $50,12 \pm 1,35$  cm,  $50,02 \pm 0,89$  cm,  $p=0,674$  bulundu. Baş çevresi değerleri hasta ve kontrol grubunda sırasıyla  $35,79 \pm 0,64$  cm,  $35,87 \pm 0,33$  cm,  $p=0,636$  bulundu. Doğum haftası hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $37,82 \pm 0,92$ ,  $38,20 \pm 0,75$  hafta,  $p < 0,011$  bulundu. Bebek yaşı hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $1,17 \pm 0,50$  gün,  $1,04 \pm 0,29$ ,  $p = 0,13$  gün bulundu. Anne yaşı hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $33,37 \pm 5,73$  yıl,  $28,26 \pm 4,52$  yıl,  $p < 0,0001$  bulundu. Annenin gebelik sayısı hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $5,32 \pm 2,62$ ,  $3,11 \pm 2,0$   $p < 0,0001$  bulundu. Annenin Kan şekeri 0. saat hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $122,04 \pm 26,06$  mg/dl,  $88,0 \pm 9,97$  mg/dl  $p < 0,0001$ , annenin OGTT 1. saat hasta grubunda  $205,11 \pm 39,56$  mg/dl, annenin OGTT 2. saat  $167,95 \pm 25,97$  mg/dl idi. Annenin Hgb A1c düzeyi hasta grubunda  $6,05 \pm 0,87$  % olarak ölçüldü. PON değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $44,77 \pm 13,69$  U/L,  $57,39 \pm 18,23$  U/L,  $p < 0,001$  bulundu. AREST değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $58,58 \pm 14,34$  U/L,  $60,19 \pm 9,68$  U/L,  $p = 0,53$  bulundu. TAS değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $0,97 \pm 0,08$  mmol Trolox Eq./L,  $0,98 \pm 0,07$  mmol Trolox Eq./L,  $p = 0,44$  bulundu. TOS değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $27,05 \pm 8,89$   $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eq./L,  $19,76 \pm 3,61$   $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eq./L,  $p < 0,001$  bulundu. OSİ değerleri hasta ve kontrol grubunda  $2,79 \pm 0,90$  Arbitrary Unit,  $2,01 \pm 0,39$  Arbitrary Unit,  $p < 0,001$  bulundu. TG değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $77,40 \pm 54,07$  mg/dl,  $43,55 \pm 35,76$  mg/dl,  $p = 0,005$  bulundu. CHOL değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $77,40 \pm 33,97$  mg/dl,  $66,93 \pm 19,0$  mg/dl,  $p = 0,13$  bulundu. HDL değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $25,80 \pm 10,64$  mg/dl,  $24,55 \pm 6,98$  mg/dl,  $p = 0,58$  bulundu. LDL değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $36,13 \pm 24,07$ ,  $33,66 \pm 14,37$ ,  $p = 0,62$  bulundu. VLDL değerleri hasta ve kontrol grubunda sırası ile  $15,47 \pm 10,82$  mg/dl,  $8,7 \pm 7,15$  mg/dl,  $p = 0,05$  bulundu.

**Tablo 8.** Hasta ve kontrol grubu ile annelerinin demografik ve karakteristik bilgileri

<b>Parametreler</b>	<b>Diabet Anne Bebegi (n=58)</b>	<b>Kontrol Gurubu (n=45)</b>	<b>P</b>
<b>Anne Yaşı (Yıl)</b>	33,37 ± 5,73	28,26 ± 4,52	< 0.001
<b>Bebek Cinsiyet (K/E)</b>	27/31	21/24	0,991
<b>Bebek Yaşı (Gün)</b>	1,17 ± 0,50	1,04 ± 0,29	0,132
<b>Bebek Boy (cm)</b>	50,12 ± 1,35	50,02 ± 0,89	0,674
<b>Bebek Kilo (Gram)</b>	3713,17 ± 460,89	2956,77 ± 184,48	< 0.001
<b>Anne HbA1C</b>	6,04 ± 0,81	-	
<b>Doğum Haftası (Hafta)</b>	37,82 ± 0,92	38,20 ± 0,75	0,030
<b>Doğum Şekli (nsvy / c/s)</b>	5/53	7/38	0,277
<b>Diabet ( Tip1/Tip2/GDM)</b>	7/7/44	0/0/0	
<b>Baş çevresi (cm)</b>	35,79 ± 0,64	35,87 ± 0,33	0,636
<b>Annenin gebelik sayısı</b>	5,32 ± 2,62	3,11 ± 2,0	0,018
<b>OGTT 0.saat (mg/dl)</b>	122,04 ± 26,06	88,0 ± 9,97	<0,0001
<b>OGTT 1.saat (mg/dl)</b>	205,11 ± 39,56	-	
<b>OGTT 2. Saat(mg/dl)</b>	167,95 ± 25,97	-	

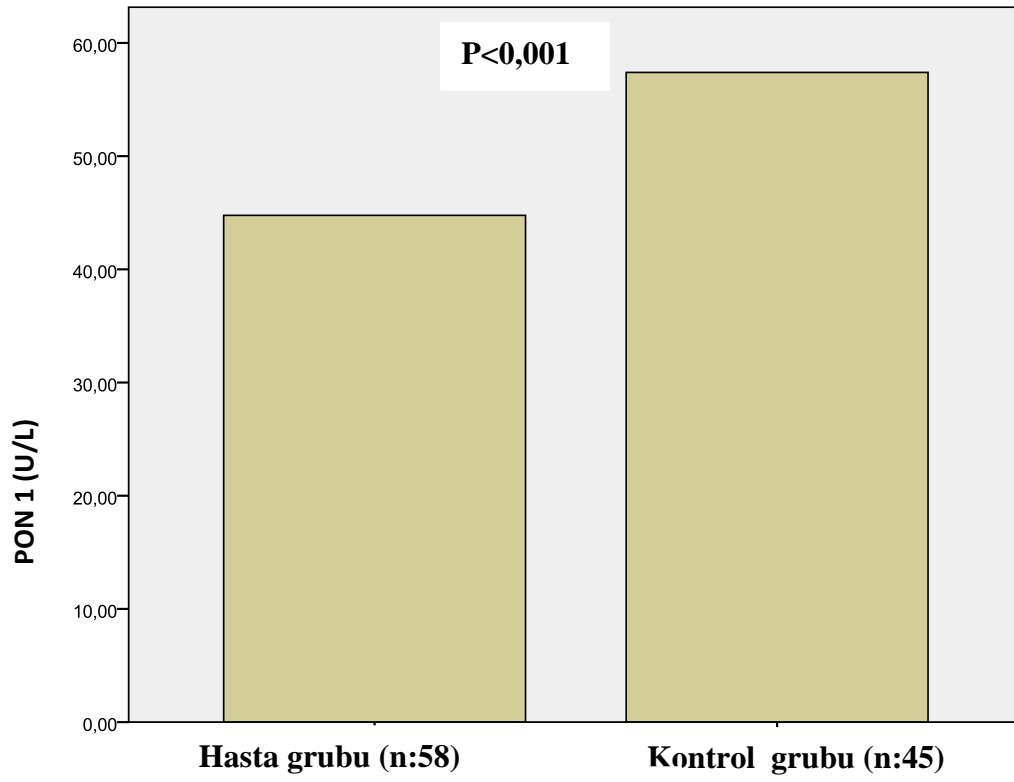
Ortalama ± Standart Sapma



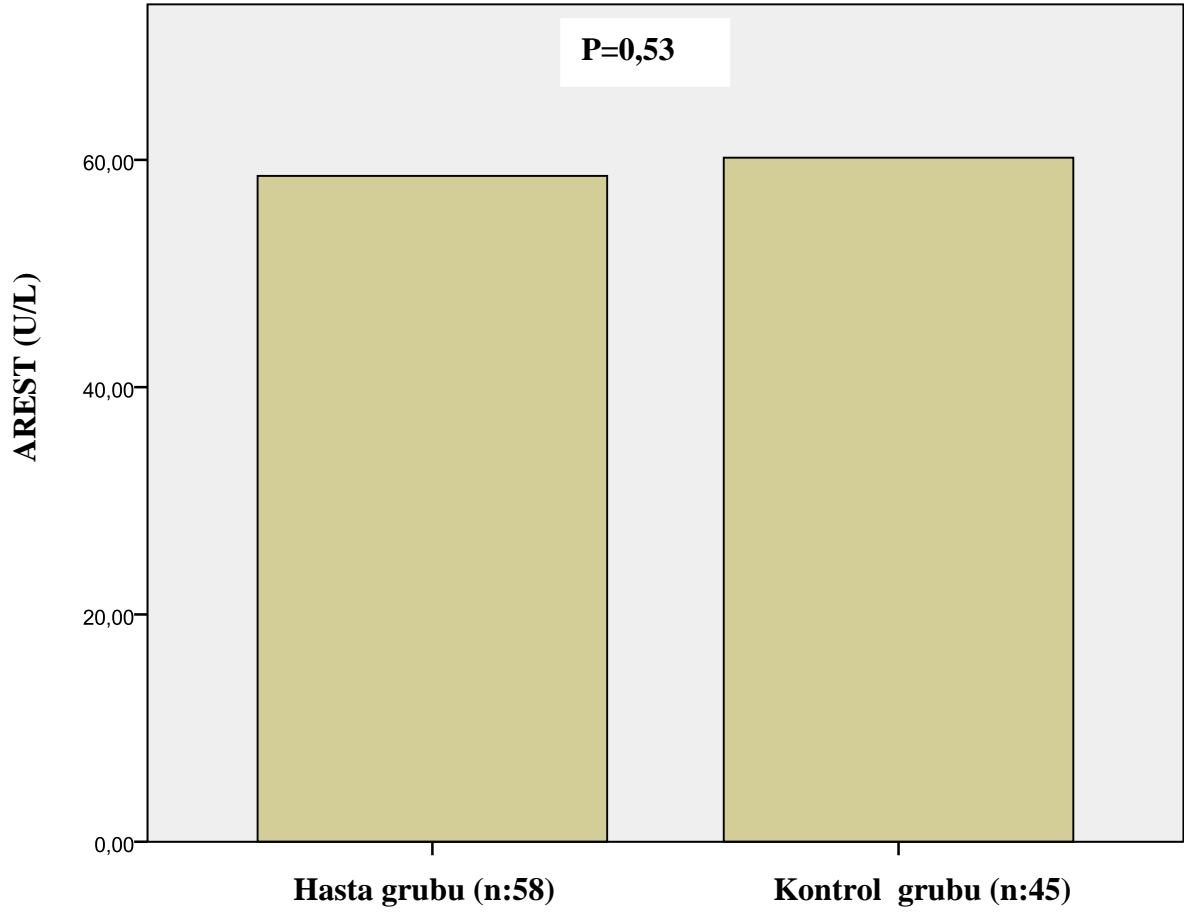
**Tablo 9.** Hasta ve Kontrol gruplarının Oksidatif Stres, PON, Arilesteraz, Trigliserid, Kolesterol, HDL, LDL ve VLDL düzeyleri

<b>Parametreler</b>	<b>Diabet Anne Bebegi (n=58)</b>	<b>Kontrol Gurubu (n=45)</b>	<b>P</b>
<b>TAS ( mmol Trolox Eq./L)</b>	0,97 ± 0,08	0,98 ± 0,07	0,446
<b>TOS (µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq./L)</b>	27,05 ± 8,89	19,76 ± 3,61	<0,001
<b>OSİ (Arbitrary Unit)</b>	2,79 ± 0,90	2,01 ± 0,39	<0,001
<b>PON 1 (U/L)</b>	44,77 ± 13,69	57,39 ± 18,23	<0,001
<b>AREST (U/L)</b>	58,58 ± 14,34	60,19 ± 9,68	0,53
<b>TG (mg/dl)</b>	77,40 ± 54,07	43,55 ± 35,76	0,005
<b>CHOL (mg/dl)</b>	77,40 ± 33,97	66,93 ± 19,0	0,13
<b>HDL (mg/dl)</b>	25,80 ± 10,64	24,55 ± 6,98	0,58
<b>LDL (mg/dl)</b>	36,13 ± 24,07	33,66 ± 14,37	0,62
<b>VLDL (mg/dl)</b>	15,47 ± 10,82	8,7 ± 7,15	0,05

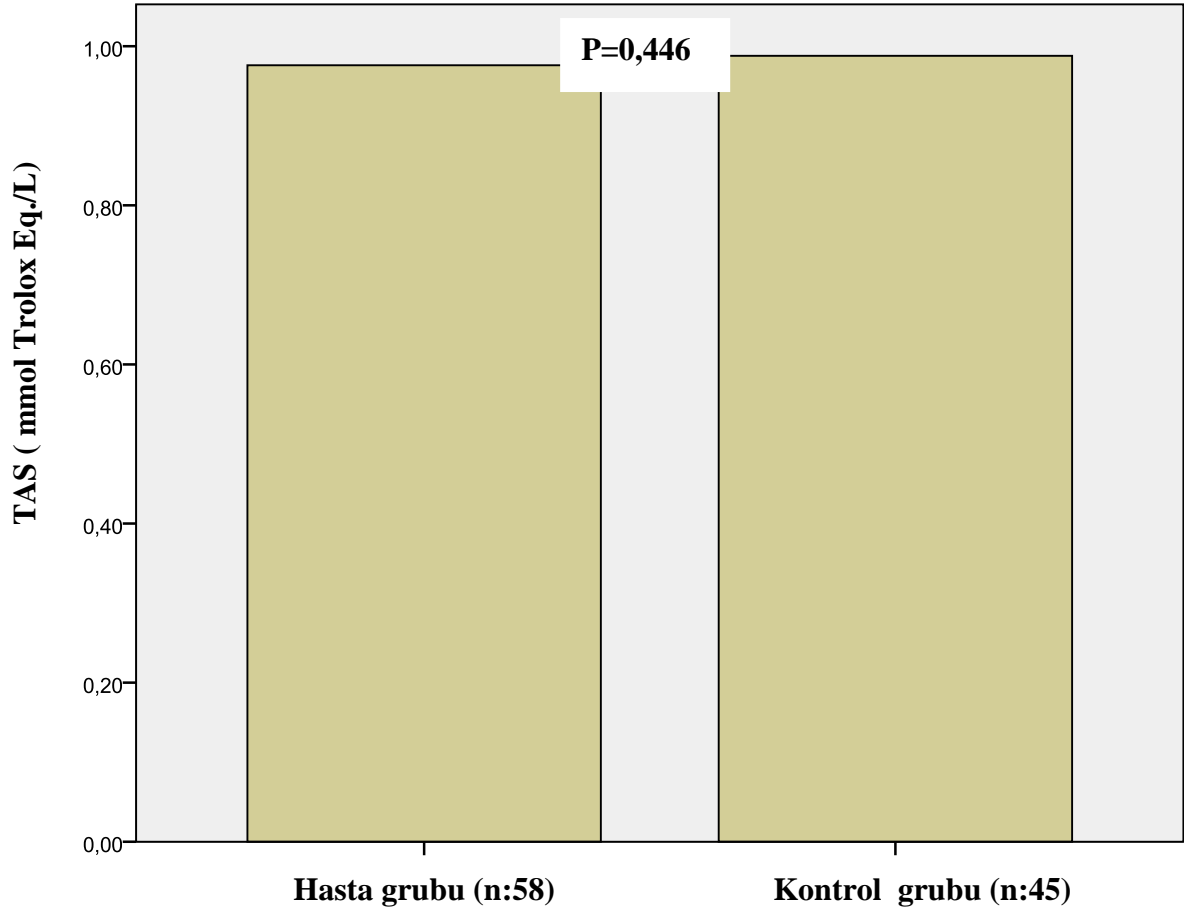
Ortalama ± Standart Sapma



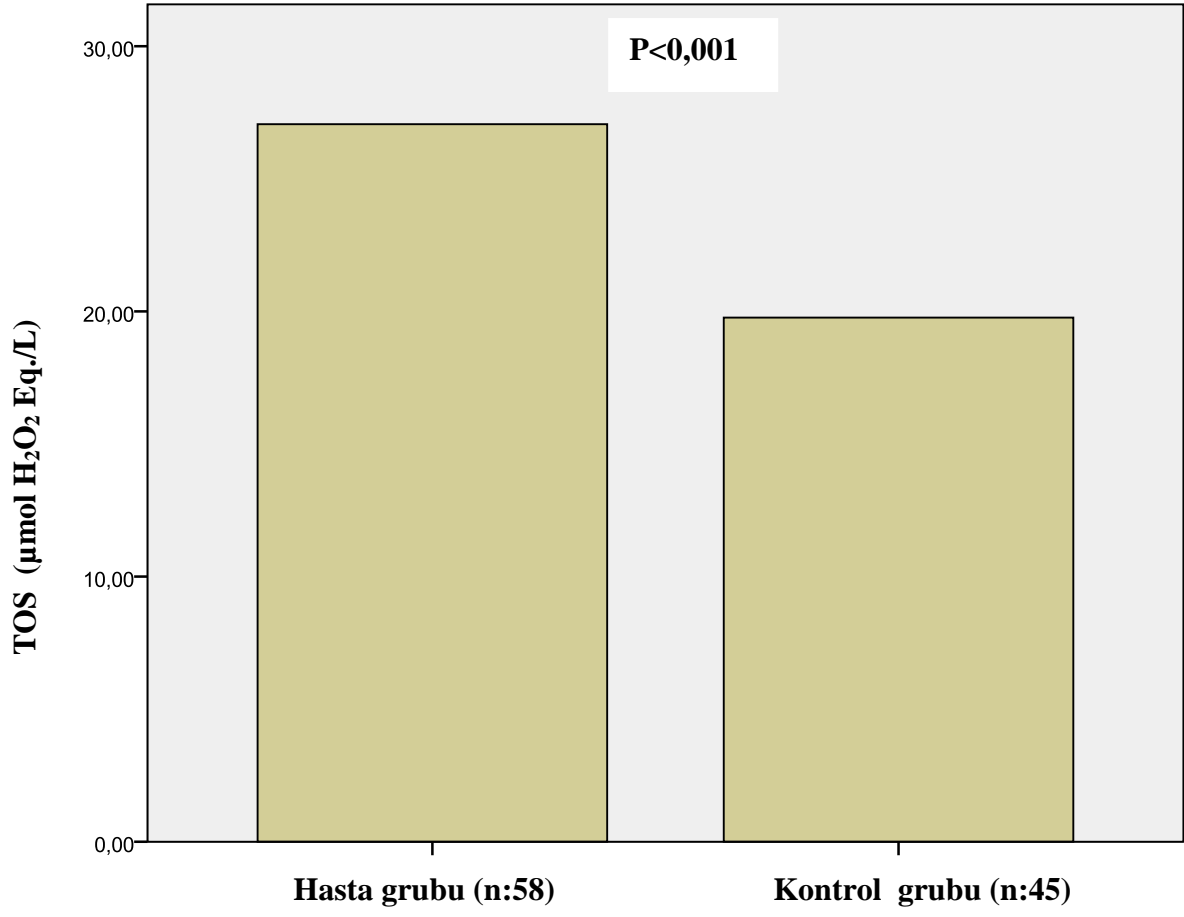
**Şekil 14.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu PON1 değerleri



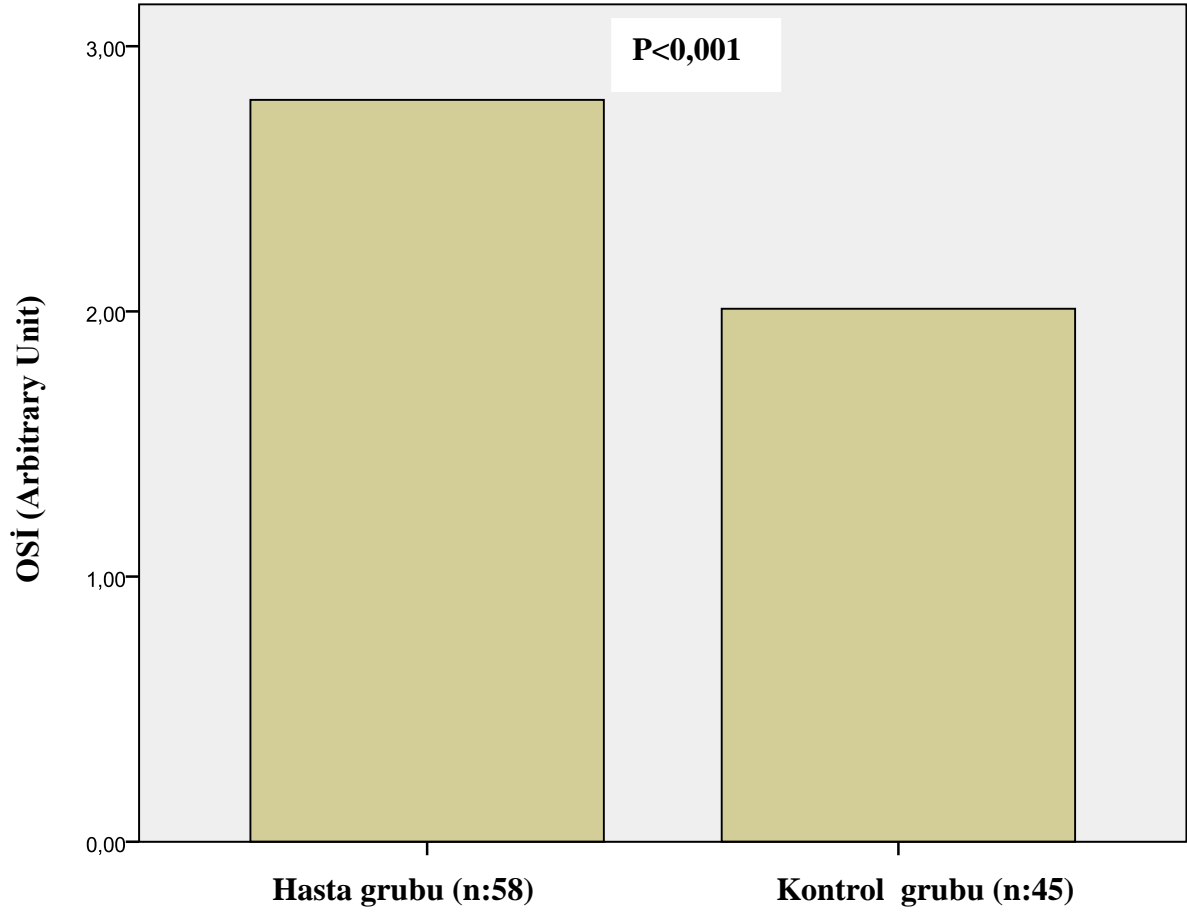
**Şekil 15.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu AREST değerleri



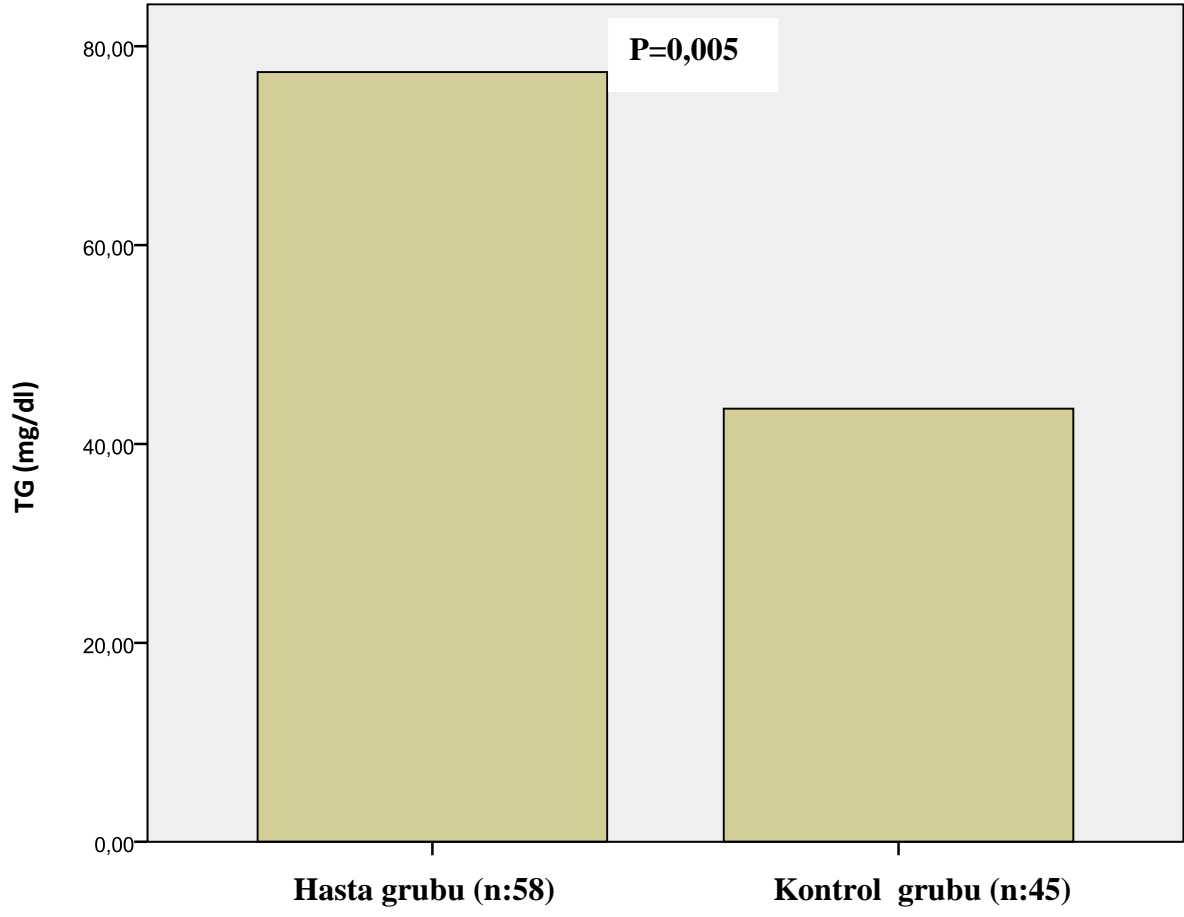
**Şekil 16.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu TAS değerleri



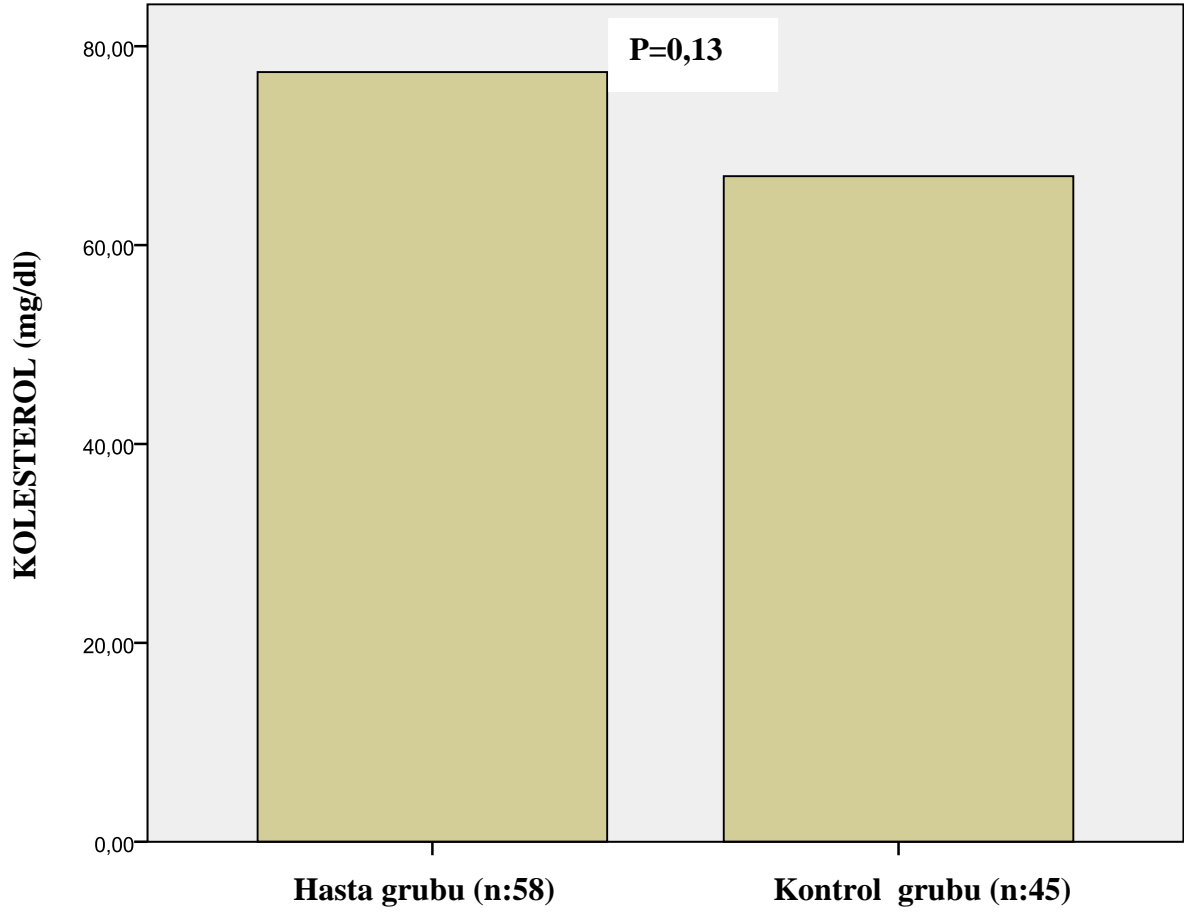
**Şekil 17.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu TOS değerleri



Şekil 18. Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu OSİ değerleri

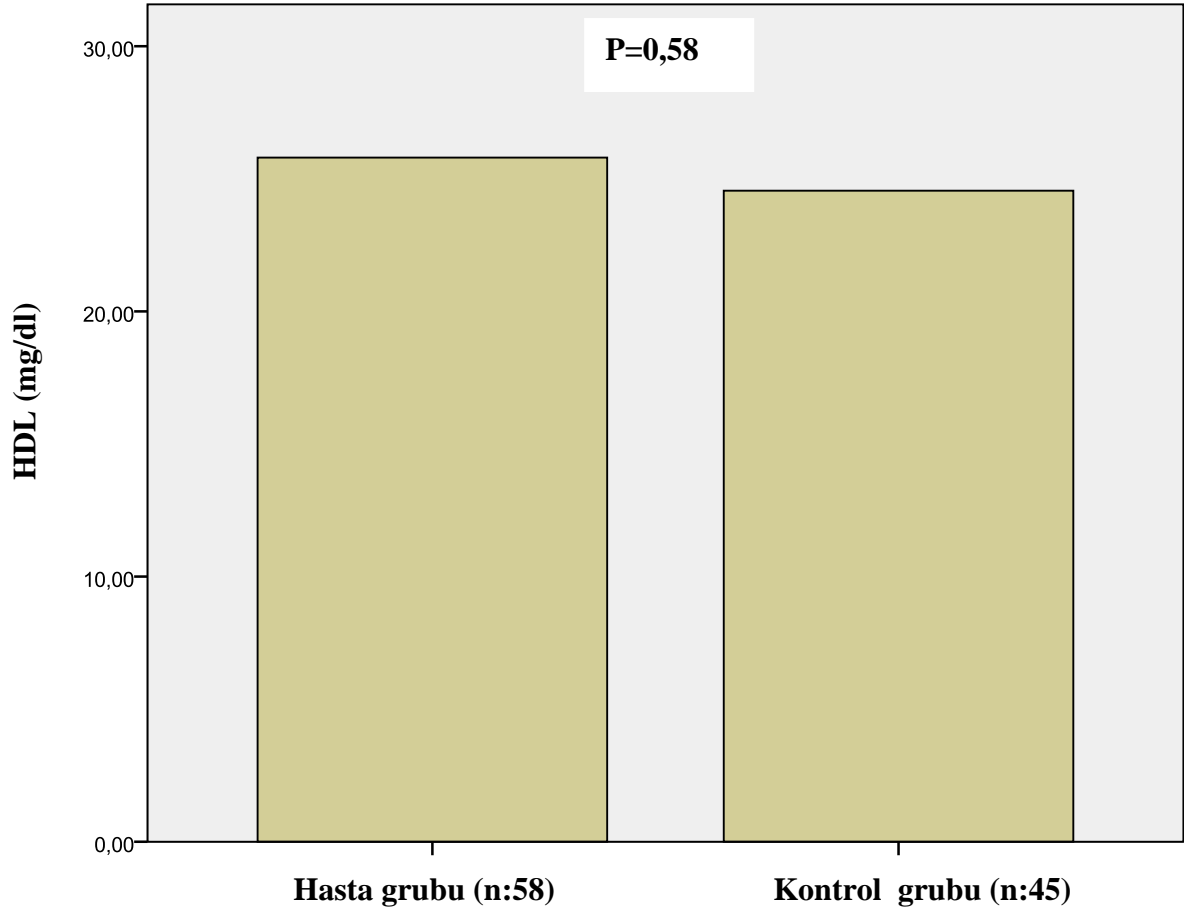


**Şekil 19.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu TG değerleri

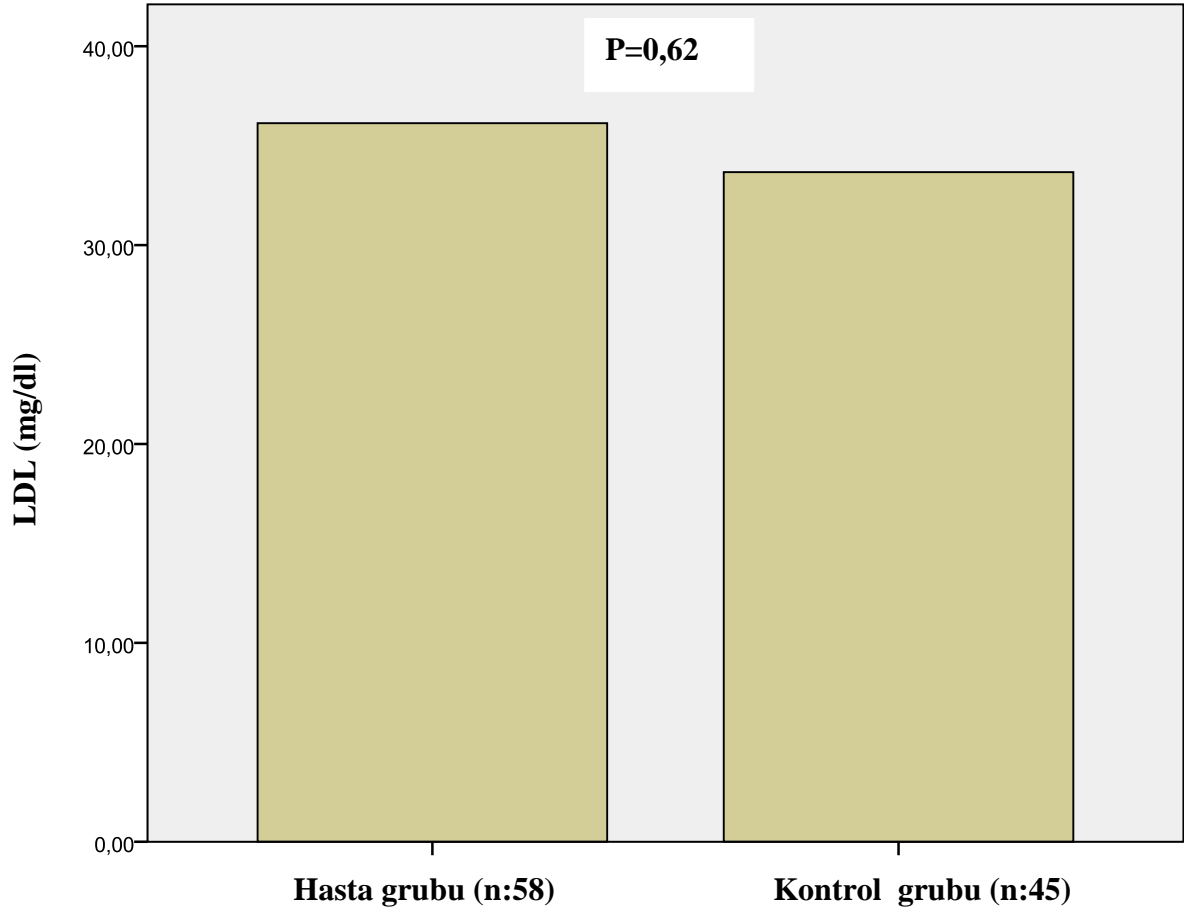


**Şekil 20.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu CHOL değerleri

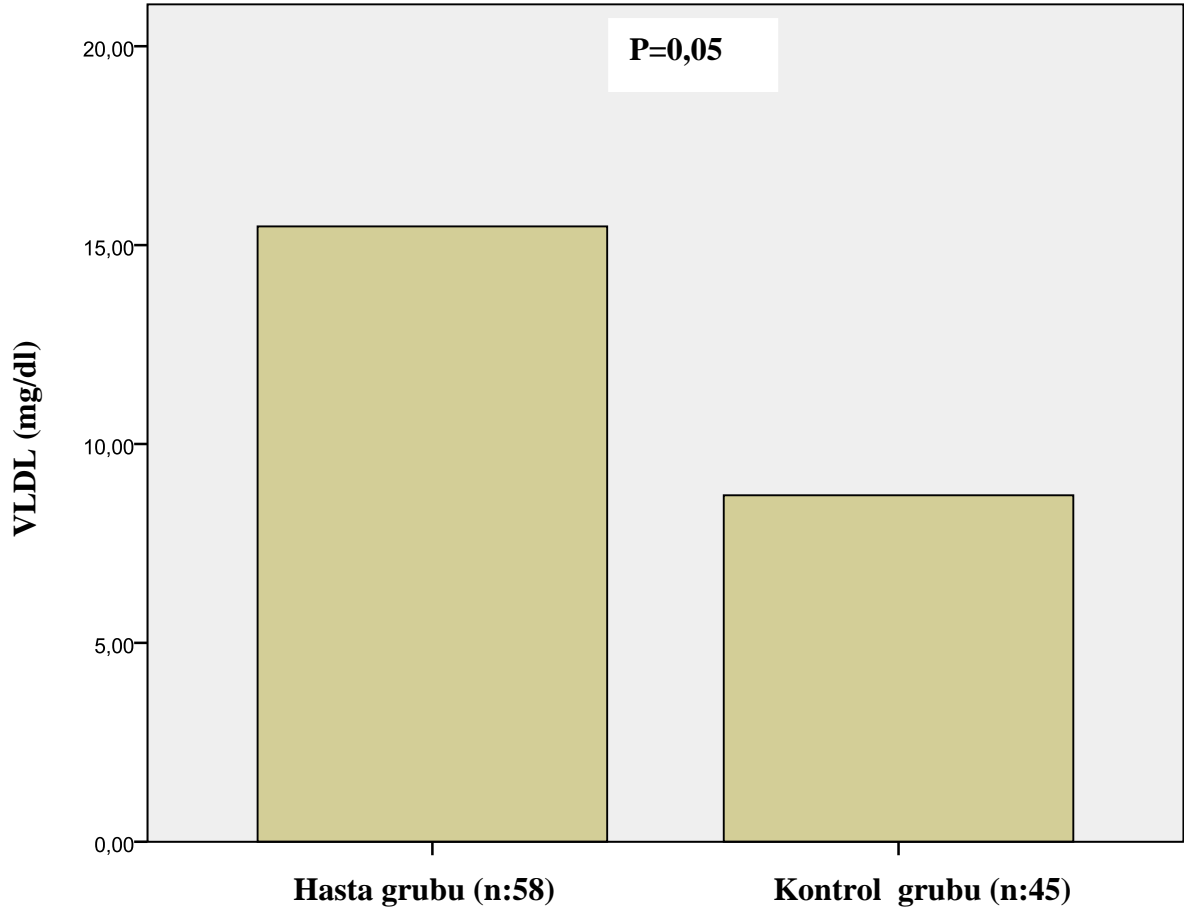




**Şekil 21.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu HDL değerleri



**Şekil 22.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu LDL değerleri



**Şekil 23.** Diabetik Anne bebeği ve kontrol grubu VLDL değerleri

Hasta grubunda PON 1 ile CHOL arasında zayıf pozitif korelasyon saptandı ( $r=0,349$ ,  $p=0,029$ ).

Hasta grubunda PON 1 ile VLDL arasında zayıf pozitif korelasyon saptandı ( $r=0,335$ ,  $p=0,037$ ).

Hasta grubunda PON 1 ile TAS, TOS, OSİ, HDL, LDL, TG, anne HgbA1C, AKŞ, anne yaşı, bebeğin doğum haftası ve kilo arasında korelasyon saptanmadı.

Kontrol grubunda PON 1 ile TAS, TOS, OSİ, HDL, LDL, TG, CHOL, VLDL, HgbA1C, AKŞ, anne yaşı bebeğin doğum haftası ve kilo arasında korelasyon saptanmadı.

## 5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabetes Mellitus, kronik hiperglisemi ile seyreden, insülin sekresyonu azlığı veya insülinin etkisinde azlık ve bazen de her ikisinin bozukluğundan kaynaklanan ve karakteristik olarak hiperglisemi ile seyreden metabolik bir hastalıktır. Kronik hiperglisemi, başta göz, böbrekler, sinirler, kalp ve damarlar olmak üzere birçok organda, zamanla hasara ve fonksiyon bozukluklarına yol açar (23).

Diyabetik anne bebeğinde konjenital anomalilerin artmasında birçok etyolojik faktör suçlanmıştır. Bunlar arasında genetik faktörler, teratojen ajanlar, maternal vasküler hastalık ve maternal diyabetin metabolik etkileri bulunur. Fetal hiperinsülinemi temel patojenik faktördür (195, 196). Hamilelik öncesi maternal obezite ile konjenital malformasyonlar arasında ilişki vardır. Yapılan bir çalışmada İntra uterin glukoz artışı ve ona bağlı ürünlerin artışının Embriyotoksik olduğu, yine benzer şekilde oksidatif stres artışının apoptozisi arttırdığı ve teratojen etkiye sebep olduğu bildirilmiştir (197).

Diyabette en sık gözlenen lipid patterni, trigliserid düzeylerinde artma ve HDL düzeylerinde azalmadır. Tip 1 diabette ise plazma lipid ve lipoprotein düzeyleri normal olabilir ancak lipoproteinlerin artmış glikasyonu ve oksidasyonu fonksiyonlarında bozukluklara yol açar (177). Diyabetle beraber LDL'nin artmış glikasyonu LDL'nin LDL reseptörü tarafından tanınmasını önler. HDL ise LDL'nin aksine glikasyona uğrayınca yapım-yıkım hızı artar ve ters kolesterol taşınmasındaki işlevini yeteri kadar gerçekleştiremez. Bununla beraber HDL'nin antioksidan fonksiyonlarında da azalma olur ve bu azalmada HDL'nin antioksidan etkilerinden sorumlu tutulan PON aktivitesinin diyabette azalmasının da sorumlu olduğu düşünülmektedir. Biz çalışmamızda DAB'lerinde sağlıklı kontrol grubuna göre HDL (p= 0,58) , LDL (p= 0,62) ve CHOL (p= 0,13) düzeylerinde anlamlı bir fark bulamadık. Ancak TG (p= 0,005), VLDL (p= 0,05) düzeylerinde anlamlı bir fark tespit ettik.

Son 10 yılda çocuklarda kalp-damar hastalıkları görülme sıklığında ciddi bir artış olduğu saptanmış olup, bu artışta aile öyküsü, obezite, yüksek kan basıncı, sigara kullanımı, HDL ve LDL kolesterol düzeylerinin önemli rolü olduğu düşünülmektedir (204). Lipit peroksidlerin ve okside radikallerin birikimine sebep olan LDL'nin oksidasyonunun aterosklerozun patogeneğinde çok önemli bir basamak olduğu kabul edilmektedir (205).

Oksidatif stres ve LDL'nin oksidasyonu, aterosklerotik lezyonların gelişmesi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. Okside LDL, aterosklerotik lezyon gelişmesini ve köpük hücre oluşumuna sebep olur (206). Diğer taraftan, süper oksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve E vitamini gibi oksidatif strese karşı koruyucu olduğu bilinen antioksidanların LDL'yi oksidasyondan koruduğu ve aterosklerotik lezyonların gelişmesini azalttığı gösterilmiştir (203, 207). Bu antioksidan sistemlerinden ayrı olarak, aynı zamanda PON1 enzimi de serbest radikal ürünleri tarafından serum lipoproteinlerini oksidasyona karşı korumaktadır (208). Bu yüzden, LDL'nin oksidasyonunu önleyen mekanizmalar son yıllarda artan bir ilgi görmüştür. Mackness ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, aterosklerozun oluşumu esnasında arter duvarında PON1 biriktiği ve böylece LDL'nin oksidasyondan korunduğu gösterilmiştir (209). Yapılan bir çalışmada düşük serum PON1 aktivitesinin aterosklerozun artmış prevalansı ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur (210). PON1'in, serumda HDL kolesterol ile ilişkili olduğu bilinmekte ve kesin bir bulgu olmamasına rağmen, artmış PON1 enzim aktivitesinin yüksek HDL kolesterol seviyeleri ile ilişkili olduğu rapor edilmektedir (210, 211). HDL kolesterol, aterosklerozun başlamasını ve ilerlemesini inhibe etmekte ve böylece LDL'nin oksidasyonunu engellemektedir. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda, serum HDL kolesterol seviyeleri ile ateroskleroz gelişim riski arasında ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir (212). Son yıllarda, in vitro yapılan bir çalışmada, HDL'nin muhtemelen enzimatik bir mekanizma ile LDL'nin oksidasyonunu önlemede etkili olduğu gösterilmiştir (213). Ayrıca HDL kolesterolün, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere de sahip olduğu bilinmektedir (214). PON1 aktivitesinin, aterosklerozun önemli bir basamağında rol oynayan serum lipoproteinlerini oksidasyondan koruyarak, ateroskleroza karşı önemli bir koruyucu role sahip olduğu bilinmektedir (89).

Tip 1 diyabeti olan kişilerde yapılan bazı çalışmalarda özellikle HDL düzeyleri değişmeden ya da artarak da HDL'nin işlevlerinde değişiklik olabileceğini göstermiştir (199). Tip 1 diyabetiklerde yapılan başka birtakım çalışmalarda da HDL alt gruplarının dağılımının değiştiği ve anormal HDL kompozisyonu olduğu gözlenmiştir (200). Biz çalışmamızda grupların HDL düzeylerini karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark bulamadık ( $p=0,58$ ).

Daha önce de belirtildiği gibi PON1 enzimi, özellikle aterogenezde major rol oynadığı kabul edilen lipid peroksidlerin oksidasyonunu önlediğinden dolayı antioksidan savunma

sistemi içinde yer almaktadır. PON1 enzimi üzerine yapılan çalışmalar enzimin LDL ve HDL partiküllerinin oksidasyonunu önleyerek ve diğer mekanizmalarla aterosklerotik oluşumu engellediği ya da yavaşlattığını göstermiştir. Bu çalışmalar, ateroskleroz ve diyabet gibi serbest radikallerin patogeneizde rol oynadığı hastalıklarda PON1 enziminin önemini ortaya çıkarmıştır (101).

Mackness ve arkadaşlarının çalışmasında diyabetik hastalardaki PON1 değeri kontrole göre anlamlı şekilde düşük bulunmuş (201). Parmaksız ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı bir çalışmada streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde PON1 aktivitesini sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak azalmış tespit edilmiştir (202). Bu çalışmalar hipergliseminin PON1 değerinin düşürdüğünü gösterip çalışmamızdaki diyabetik anne bebeklerinin sağlıklı kontrol grubuna göre hiperglisemi maruziyeti sonucunda oluşan PON1 düşüklüğünü desteklemektedir ( $p<0.001$ ).

Çalışmamızda hasta grubunda PON1 değeri ile glukoz düzeyi ya da HbA1c arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamaktadır. Çalışmamızda diyabetik anne bebeklerinin sağlıklı kontrol grubuna göre PON1 aktivitesinin azalması; enzimin serum konsantrasyonunun azalmasıyla veya daha kuvvetli bir ihtimalle oksidatif stres arttığında dolaşıma salınan oksidasyon ürünlerine bağlı inhibisyonu sonucu gerçekleştiği düşünülebilir. Hipergliseminin oksidatif stresi artırdığı düşünülürse çalışmamızdaki hasta ve kontrol grubu arasındaki TOS ( $p<0,001$ ) ve OSİ ( $p<0,001$ ) değerlerinin arasında anlamlı fark bulunmasını açıklamaktadır.

Düşük PON1 enzim aktivitesinin sebebinin kesin olarak bilinmemesine rağmen iki önemli görüş ileri sürülmektedir: Bunlardan birincisi, düşük PON1 aktivitesinin, HDL kolesterol ile ilişkili bir enzim olmasından dolayı, azalmış HDL-k seviyeleri ile ilişkili olabileceği, diğer bir görüş ise, antioksidan bir enzim olan PON1 aktivitesinin serum lipoproteinlerini oksidasyona karşı koruduğu ve oksidasyonun arttığı durumlarda kullanılması sonucu olarak da bu enzim aktivitesinin azalmış olabileceğidir (203).

Literatürdeki çeşitli çalışmalarda, bazı hastalık durumlarında paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinin azaldığı ve bu hastalıkların ateroskleroz için risk faktörü olduğu bildirilmiştir (215-219). McElveen ve ark.ları yaptıkları bir vaka kontrol çalışmasında akut myokard enfarktüsü hastalarda serum PON1 aktivitesinin sağlıklı kontrol grubuna göre

önemli derecede düşük olduğu saptanmıştır (215). Mackness ve ark.ları, koroner arter hastalıklı olgularda, PON1 düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (216). Japonlarda yapılan bir çalışmada PON1'in koroner arter hastalık için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (217). Thomas Moya ve ark.ları ratlarla yaptığı bir çalışmada %40 kadar kalori kısıtlamasıyla PON1 aktivitesinde çok ciddi bir düşme olduğunu ve bunun Apo-J ve Apo-A1 ile güçlü bir korelasyon gösterdiğini, özellikle bu sonuçların dişi farelerde daha iyi gözlemlendiğini, bu nedenle PON1 aktivitesinin cinsiyetler arasında da önemli bir fark gösterdiğini rapor etmişlerdir (218). Çakmak A. ve ark.ları yaptığı bir çalışmada, beta talasemi major olan çocuk hastalarda oksidatif stresin artarak PON1 enzim aktivitesini azalttığını rapor etmiştir. Bu çalışmaya göre betatalasemi major olan çocuk hastalar PON1 enzim aktivitesinin azalmasına bağlı olarak ateroskleroz gelişimine daha yatkın olabilirler (219).

Oksidatif stres pek çok hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Antioksidan tedavinin oksidatif stresi azalttığı düşünülürse antioksidan tedavi pek çok hastalık için potansiyel tedavi yöntemi olabilir. Oksidatif stresin diyabet patogenezi ve komplikasyonlarının oluşumunda oynadığı rol göz önüne alınırsa diyabet tedavisi için farklı yaklaşımlar geliştirilebilir.

Yaptığımız literatür taramasında diyabetik anne bebeklerinde Paraoksonaz aktivitesi ile TAS, TOS ve OSİ'ni gösteren, çalışmamızı karşılaştırabileceğimiz herhangi bir yayına rastlayamadık. Bizim çalışmamızın eksikleri hasta sayısı az olup bu hastalar uzun süreli takip edilemedi. Bu çalışmanın paraoksonaz düzeyinin düşük olmasıyla aterosklerozun oluşup oluşmayacağını ve oksidatif stresin artması ile ilişkili hastalıkların oluşup oluşmayacağını ortaya koyacak yeni çalışmalara öncülük edeceğini düşünüyoruz. Hastalarda ateroskleroz veya diğer oksidatif stres ile ilişkili gelişebilecek hastalıklar açısından daha kapsamlı ve daha uzun süreli çalışmalar gerekmektedir.

Sonuç olarak; Bu çalışma bile bildiğimiz kadarıyla diyabetik anne bebeklerinde Paraoksonaz aktivitesi ile TAS, TOS ve OSİ'ni gösteren ilk çalışmadır. Ayrıca bu çalışmada Diyabetik anne bebeklerinde TOS ve OSİ kontrol grubuna göre daha yüksek, Paraoksonaz aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşüktü. Diyabetik anne bebeklerinin kötü hiperglisemik kontrolü sonucunda oksidatif stresin artması, paraoksonaz aktivitesinin düşük olmasına yol

açıp ateroskleroz gelişimi açısından risk altında olduklarını düşündürmektedir. Bu sonuç diyabetik anne bebeklerinde hiperglisemik kontrolün diyabetik anne bebekleri üzerinde ne kadar önemli olabileceğini düşündürmektedir. İntrauterin programlama ile diyabetik anne bebeklerinin hiperglisemik kontrolünün sağlanması veya diyabetik annelerin hiperglisemik kontrolünün sağlanıp diyabetik anne bebeklerinin daha az hiperglisemiye maruz kalması ile oksidatif stresi azaltıp ateroskleroz gelişim riskinin azaltılabileceğini düşünmekteyiz.



## KAYNAKLAR

1. Combs CA, Gunderson E, Kitzmiller JL, Gavin LA and Main EK. Relationship of fetal macrosomia to maternal postprandial glucose control during pregnancy. *Diabetes care* 1992; 15: 1251-57.
2. Diabetes Mellitus. *Katkı Pediatri Dergisi*. H.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim “Dalı ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü Yayını 1997; 18: 92-108.
3. Kızıltan M. Diyabet ve periferik nöropati. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri, Diabetes Mellitus Sempozyumu 1997;69-77.
4. Primo-parma SL, sorensen RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomic* 1996;33:498-509.
5. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen pharm* 1998;3:329-36.
6. Parthasarathy S, Barnett J, Fonf LG. High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1990;1044:275-83.
7. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Eng J Med*. 1989;320:915-24.
8. Klmow AN, Kozhemyakin LA, Pleskov VM, Andrerva LI. Antioxidative effect of high-density lipoproteins in the oxidation of low-density lipoproteins. *Bull Exp bial Med (Russ)* 1987;103:550-2.
9. Mackness MI, Durrington PN. High density lipoprotein its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosklerosia* 1995;115:243-53.
10. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase:Biochemistry, genetic and relationship to plasma lipoproteins. *Curr opin Lipidol* 1996;7:69-76.
11. Balcı ekmekçi Ö, Donma O, Ekmekçi H. Paraoxonase. *Cerrahpaşa J Med* 2004;35:78-82.
12. Suchocka Z, Swatowska J, Suchocka P; RP-HPLC determination of paraoxonase activity in human blood serum. *J of pharmaceutical and biomedical analysis* 2006;42:113-9.
13. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S et al. Human paraoxonase (PON) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroksidase-like activities. *Circulations* 2000;101:2510-7.

14. Ahmed Z, Ravandi A, Maguire GF, Emili A, Draganov D, La Du BN et al. Apolipoprotein A-I promotes the formation of phosphatidylcholine core aldehydes that are hydrolyzed by paraoxonase (PON-1) during high density lipoprotein oxidation with a peroxynitrite donor. *J Biol Chem*. 2001 Jul 6;276(27):24473-81.
15. Aviram M, Rosenblat M: Paraoxonase 1, 2 and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med* 2004;37:1304-16.
16. Shih DM, Xia YR, Wang XP, Miller E, Castellani LW, Subbanagounder G et al. Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol Chem*. 2000 Jun 9;275(23):17527-35.
17. MacKness B, Mackness MI, Durrington PN, Arrol S, Evans AE, McMaster D et al. Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart disease. *Eur J Clin Invest*. 2000;30(1):4-10.
18. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 1991 ;86(2-3):193-9.
19. Mackness B, Durrington PN, Boulton AJM, Hine D, Mackness MI: Serum paraoxonase activity in patients with type I diabetes compared to healthy controls. *Eur J Clin invest* 2002;32:259-64.
20. Mackness MI, Mackness BM, Durrington PN: Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler suppl* 2002;3(4):49-55.
21. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*. 1987;107(4):526-45.
22. Ahmed AM. History of Diabetes Mellitus; *Saudi Med J*, 2002; 23(4): 373-8.
23. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: *Diabetes Care*. 1997 ; 20: 7-8.
24. American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus; *Diabetes Care*. 2005; 28(1): 37-42.
25. Baekkeskov S, Neilsen JH. Autoantibodies in newly diagnosed diabetic children with immunoprecipitate human pancreatic islet cell proteins. *Nature* 1982; 298: 167-9.
26. Schott M, Schatz D, Atkinson M. GAD65 autoantibodies increase the predictability but not the sensitivity of islet cell and insulin autoantibodies for developing insulin dependent diabetes mellitus; *J Autoimmunity* 1994; 7: 865-72.

27. Atkinson MA, Macleran NK. Are insulin autoantibodies markers for insulin-dependent mellitus? *Diabetes*. 1986; 35: 894-8.
28. Thomas R. Moore. Diabetes in pregnancy. In Creasy RK, Resnik R, eds. *Maternal- Fetal Medicine*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 2004: 1023-61.
29. American Diabetes Association: Gestational Diabetes Mellitus; *Diabetes Care*. 2003; 26(1): 103-5.
30. Metzger BE, Coustan DR; Proceedings of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1998; 21( 2): 167-8.
31. Metin A, Goksun A. Diabetes Mellitusta tanı ve sınıflama. *İc Hastalıkları* 2003; 2. baskı Guneş Kitabevi Sayfa 2279-331.
32. Yrd. Doç. Dr. Serdar Özşener (Steven G.Gabbe'den) Diabetes mellitus, Yuksek riskli gebeliklerde tanı ve tedavi protokolleri, 2004; 3: 253-63.
33. Engelgau MM, Herman WH, Smith PJ. The epidemiology of diabetes and pregnancy in the US, *Diabetes Care*. 1995 ; 18 (7): 1029-33.
34. Coustan DR. Gestational diabetes. *Diabetes in America*, National Institutes of Health. 1995; 95: 703-17.
35. Silverman BL: Longterm prospective evaluation of offspring of diabetic mothers. *Diabetes*. 1991; 40(2): 121-5.
36. Lupo VR: Recurrence of gestational diabetes in subsequent pregnancies. *Gestational Diabetes*. 1988; 4: 123-6.
37. Cunningham FG: Diabetes. İn: Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, et al: Eds. *Williams Obstetrics* 21' th ed. Appleton & Lange 2001; 567-618.
38. İsmail D, Ozlem O. Diabetes Mellitus ve Gebelik Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi 1. baskı Guneş Kitabevi: 2006: 435-50.
39. O'Sullivan JB: Screening criteria for high risk gestational diabetic patients *Am J Obstet Gynecol*. 1993; 116: 895-900.
40. American College of Obstetricians and Gynecologists: Diabetes and pregnancy ACOG Technical Bulletin. Washington, DC 1994; 73: 572-3.
41. Carpenter MW, Coustan DR: Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 144: 768-73.
42. Berkus MD, Langer O: Glucose tolerance test: Degree of glucose abnormality correlates with neonatal outcome. *Obstet Gynecol*. 1993; 81: 344-5.

43. Janice Falls, Lorraine Milio. Endocrine Disease in Pregnancy. In: Brandon J.B, Amy E. H eds. The Johns Hopkins Manuel of Gynecology and Obstetrics. 2th ed. philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins: 2002; 162-82.
44. Green AA, Solte'sz G: The infant of a diabetic mother: In: Textbook of Neonatology Robertson NCR (ed). Churchill Living ston p. 1992: 333-8.
45. Pildes RS: Infants of diabetic mothers. In: Neonatology, Pa thophysiology and management of the newborn. Avery GB (ed). Philadelphia, Lippincott and Co 1987: 332-6.
46. Cowent RM, Schwartz R: The infant of the diabetic mother. *Pediatr Clin North Am* 1992; 29: 11213-4.
47. Weingold AB: Diabetes in pregnancy. In: Given JR (ed). *En docrinology of pregnancy*. Chicago, Year book medical publish ers. 1981; 32: 737-8.
48. Dağoğlu T. Diabetik anne çocuğu. In: Dağoğlu T. (ed). *Neonataloji*. İstanbul: Nobel tip kitabevleri, 2000: 629-31.
49. Cowett RR: Hypoglisemia and hyperglisemia in the newbern. In: *Fetal and Neonatal Physiology*. Polin RA, Fox WW (eds). W. Saunders Company. Philadelphia. 1992: 440-4.
50. Block MB, Pildes RS, Mossabhoy NA, Steiner DF, Rubenstein AH. C-peptide immunoreactivity (CPR): a new method for studying infants of insulin-treated diabetic mothers. *Pediatrics*. 2006; 53: 923-8.
51. Brans YW, Huff RW, Shannon BL: Maternal diabetes and neonatal macrosomia. Postpartum maternal HbA1c levels and neonatal hypoglycemia. *Pediatrics*. 2005; 70: 576-81.
52. Widncss JA, Schwartz HC, Thompson E: Hemoglobin A1c in diabetic pregnancy. An indication of glucose control and fetal size. *BR J Obstet Gynecol*. 2004; 85: 812-9.
53. Ballard RA: Diabetes mellitus. In: *Diseases of the newborn*. Taeosch HW, Ballard RA, Avery ME (eds.) W.B. Saunders Com pany, Philadelphia p. 1991; 66: 71-2.
54. Diabetes in pregnancy. In: Given JR (ed). *En docrinology of pregnancy*. Chicago, Year book medical publish ers. 2001; 65: 347-8.
55. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2006; 32: 87-91.
56. Persson B ,Hanson U. Neonatal morbidities in gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1998; 21 (1 2): 79-84.
57. Hadden DR. Geographic, ethnic, and racial variations in the incidence of gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 1985;34(2): 8-12.
58. Weber HS, Copel JA, Reece EA, Green J ,Kleinman CS. Cardiac growth in fetuses of diabetic mothers with good metabolic control. *J Pediatr*. 1991; 118: 103-7.

59. Roller MD, Kaplan S: Hypertrophic cardiomyopathy in infants of diabetic mothers, an update. *Am J Perinatol.* 1988; 5: 353-8.
60. Breitwieser JA, Mayer RA, Sperling MA: Cardiac septal hypertrophy in hyperinsulinemic infants. *J Pediatr.* 2005; 96: 535-41.
61. *Perinataloji dergisi* 1993; 1(2):0 online yayın tarihi 1 Aralık 2004 Diabetik anne çocuğu.
62. Aucott SW, Williams TG, Hertz RH, Kalhan SC. Rigorous management of insulin-dependent diabetes mellitus during pregnancy. *Acta Diabetol.* 1994;31:126-9.
63. Becerra JE, Khoury MJ, Cordero JF, Erickson JD. Diabetes mellitus during pregnancy and the risks for specific birth defects: a population-based case-control study. *Pediatrics.* 1990; 85: 1-9.
64. Weintrob N, Karp M, Hod M. Short- and long-range complications in offspring of diabetic mothers. *J Diabetes Complications.* 1996; 10: 294-301.
65. Mills JL, Knoop RH, Simpson JL: Lack of relation of increased malformation rates in infants of diabetic mothers to glycemic control during organogenesis. *New Engl J Med.* 1988; 318: 671- 6.
66. Edwards JRG, Newall DR: Relaxin as an aetiological factor in diabetic embryopathy. *Lancet.* 1988: 1428-30.
67. Cousins L: Congenital anomalies among IDDM. *Am J Obstet Gynecol.* 1983; 147: 333-6.
68. Cruikshank DP, Pitkin RM, Varner M: Calcium metabolism in diabetic mothers, fetus and newborn infants. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;145:1010-15.
69. Kuhlc Anderson GE, Hertel J, Mölsted-Pedersen L: Metabolic events in infants of diabetic mothers during first 24 hours after birth. *Acta Pediatr Scand* 1992; 71: 19-25.
70. Hollingsworth AR: Endocrin and metabolic homeostasis in diabetic pregnancy. *Clin Perinatol.* 1993; 10: 593-8.
71. Spellacy WN: Evaluation and management of diabetes in pregnancy. *Adv Clin Obstet Gynecol.* 1994; 2: 34-8.
72. Riley WJ, Maclaren NK, Silverstein JH: The predictability of insulin-dependent diabetes mellitus. *Adv Pediatr* 1988;35:167-73.
73. Persson B, Geniz J, Moller E: Follow up of children of insulin dependent (Type 1) and gestational diabetic mothers. *Acta Pediatr Scand.* 1984; 6: 778-82.
74. P.N. Durrington, B. Mackness, M.I. Mackness Paraoxonase and Atherosclerosis *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:473-80.

75. Mazur A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates. *J Biol Chem* 1946;164:271-89.
76. Aldridge WN. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953;53:117-24.
77. Uriel, A. Characterisation des cholinesterases et d'autres esterases carboxylique apres electrophorese en gelose. *Am instit Pasteur*. 1961;101: 104.
78. Mackness M.I., Halam S.D.. The Separation Of Sheep And Human Serum "A-Esterase Activity Into The Lipoprotein Fraction By Ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B*, 1985: 82: 675-7.
79. Mackness M.I., Walker C.H. : Multiple Forms Of Sheep Serum A-Esterase Activity Associated With The High-Density Lipoprotein. *Biochem J*. 1988: 250. 539-45.
80. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991;286:152-4.
81. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised Trial Of Cholesterol Lowering In 4444 Patient With Coronary Heart Disease. *Lancet* 1994; 344: 1383-9.
82. Deakin S, James R. W, Genetic and Enviromental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I *Clinical Science* 2004; 107: 435-47.
83. Jay W. Heinecke1 and Aldons J. Lusis Paraoxonase-Gene Polymorphisms Associated with Coronary Heart Disease: Support for the Oxidative Damage Hypothesis? *Am. J. Hum. Genet.* 1998;62:20-4.
84. Schmidt H., Schmidt, R. PON1 polymorphism leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke* 1998; 29:2043- 8.
85. Serrato M, Marian AJ. A variant of the human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1995; 96:3005-8.
86. Başkol G, Köse G. Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi *Erciyes Tıp Dergisi* 2004;26 (2): 75-80.
87. Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol.* 2004;11(5):412-9.
88. Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR, Navab M et al. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable

of preventing cell mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Biol Chem.* 2001;276(48):44444-9.

89. Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med.* 2005;38(2):153-63.

90. Hegele, R.A., "Paraoxonase Genes and Disease". *Ann. Med.* 1999; 31: 217-24.

91. Hegele, R.A., Harris, S. B., ConnellyPW, Hanley AJ, Tsui LC et al. "Genetic Variation in Paraoxonase- 2 Is Associated With Variation in Plasma Lipoproteins in Canadian Oji-Cree". *Clin. Genet.* 1998;54:394-9.

92. Chen, Q., Reis, S. E., Kammerer et al. "Association Between The Severity of Angiographic Coronary Artery Disease and Paraoxonase Gene Polymorphisms in The National Heart, Lung, and Blood Institute-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study". *Am. J. Hum. Genet.* 2003; 72: 13-22.

93. Yamada, Y.A., F.; Niino, N.; Miki, T.; Shimokata, H., "Association of polymorphisms of paraoxonase 1 and 2 genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese". *J. Hum. Genet.* 2003; 48: 469-75.

94. Liang, H.-L.L.D.-P.L.C.-C., "Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases." *J Mol Med.* 2003; 81: 766-79.

95. Rosenblat M, Draganov D, Watson CE, Bisgaier CL, La Du BN, Aviram M. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity is increased whereas cellular paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(3):468-74.

96. Campo S, Sardo AM, Campo GM, Avenoso A, Castaldo M, D'Ascola A, Giunta E, Calatroni A, Saitta A. Identification of paraoxonase 3 gene (PON3) missense mutations in a population of southern Italy. *Mutat Res.* 2004;546(1-2):75-80.

97. Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S, Gangopadhyay A, Shih DM, Lusis AJ, Navab M, Fogelman AM. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(4):542-7.

98. Brennan ML, Anderson MM, Shih DM, Qu XD, Wang X, Mehta AC, Lim LL, Shi W, Hazen SL, Jacob JS, Crowley JR, Heinecke JW, Lusis AJ. Increased atherosclerosis in myeloperoxidase-deficient mice. *J Clin Invest.* 2001 Feb;107(4):419-30.

99. Cao H. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation. *J Lipid Res.* 1999;40:133- 9.

100. Mackness B. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorfizms. *Febs Letter* 1998; 423: 57-60.

101. Ekmekçi Ö., Donma O., Ekmekçi H. *Paraoksonaz Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2004;35:2.
102. Lund-Katz, S., Liu, L.J., Thuahnai et al. "High Density Lipoprotein Structure". *Front. Biosci.* 1998; 8: 1044-54.
103. Navab, M.e.a, "High density associated enzymes:their role in vascular biology". *Curr. Opin. Lipidol* 1998;9:449-56.
104. Borhani, D.W, Rogers DP, Engler JA, Brouillette CG "Crystal Structure Oftruncated Human Apolipoprotein A-I Suggests A Lipid Bound Conformation". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997; 94: 12291-96.
105. Sinan, M.S.T.S., "İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin (PON1) Expressiyonu, Saflastırılması ve Bazı İlaçların Enzim Uzerine Etkilerinin Arastırılması." Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı. 2005.
106. E. Azarsız, E.Y.S., "Paraoksonaz ve Klinik Onemi". *Turk Biyokimya Dergisi.* 2000;25(3): 109-19.
107. Lucio G. Costaa, T.B.C., Annabella Vitalone, Clement E. Furlong "Measurement of paraoxonase (PON1) status as a potential biomarker of susceptibility to organophosphate toxicity." *Clinica Chimica Acta.* 2005;352:37-47.
108. Lucio G. Costa, T.B.C., Gail P. Jarvik, and C.E. Furlong, "Functional Genomics of the paraoxonase (PON1) Polymorphisms: Effects on Pesticide Sensitivity, Cardiovascular Disease, and Drug Metabolism". *Annu. Rev. Med.* 2003;54:371-92.
109. Joanne Hughes, A.C., Carol Courage, "A Review of The Effects of Low- Level Exposure to Organophosphate Pesticides on Fetal and Childhood Health". *Institute for Environment and Health* 2002;1:72-3.
110. BN, L.D., "Human Serum Paraoxonase/Arylesterase. In: Kalow W (ed) *Genetic Factors Influencing The Metabolism of Foreign Compounds.(International encyclopedia of pharmacology and therapeutics)*". Pergamon Press, New York. 2002;1:51-91.
111. Du, I.D.B.N.L., "Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review." *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004; 369: 78-88.
112. Eckerson, H., Romson, J., Wyte et al. "The Human Serum Paraoxonase Polymorphism: Identification of Phenotypes by Their Response to Salts". *Am J Hum. Genet.* 1983;35(2): 214-227.
113. Sorenson RC, P.-P.S., Camper SA, La Du BN, "The genetic mapping and gene structure of mouse paraoxonase/arylesterase". *Genomics.* 1995;30:431-38.



114. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, Standiford TJ. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact.* 1999;119:379-88.
115. H, J., Calcium-Dependent Human Serum Homocysteine Thiolactone Hydrolase. A Protective Mechanism Against Protein N-homocysteinylation". *J Biol Chem.* 2000;275:3957-62.
116. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C et al. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos.* 2000;28(11):1335-42.
117. Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, Shih D.M, Aviram M. Free radical biology 2003; 34:774-784.
118. Mackness M I, Arrol S, Abbott C, Durrington P N. Protection of low density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993; 104:129-35.
119. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest.* 1995 Dec;96(6):2882-91.
120. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat Met al. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1617-24.
121. Mackness MI, Hallam SD, Peard T, Warner S, Walker CH. The separation of sheep and human serum "A"-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B.* 1985; 82:675-7.
122. Nguyen S D, Sok D E. Preferable stimulation of PON1 arylesterase activivty by phosphatidylcholines with unsaturated acyl chains or oxidised acyl chains at sn-2 position. *Biochimica et Biophysica acta* 2006; 1758:499-508.
123. Brophy V H., Jampsa RL, Clendenning J B., McKinstry L A, Jarvik G P, Furlong CE. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonasegene (PONI) expression. *Am J Hum Genet.* 2001; 68:1428-36.

124. Ildiko Seres, G.P., Elaine Deschene, Tamas Fulop Jr., Abdelouahed Khalil, "Study of Factors Influencing The Decreased HDL Associated PON1 Activity With Aging". *Experimental Gerontology*. 2004;39:59-66.
125. James, S.P.D.a.R.W., "Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase- 1." *Clinical Science*. 2004;107:435–47.
126. James, R.W., Leviev, I. and Righetti, A., "Smoking Is Associated With Reduced Serum Paraoxonase Activity And Concentration in Coronary Artery Disease Patients". *Circulation*. 2000;101:2252-57.
127. Van der Gaag MS, van Tol A, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G et al. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis*. 1999;147(2):405-10.
128. James R, Leviev I, Ruiz J, Passa P, Fuegel P, Garin MC. Promoter polymorphism T(107) C of the paraoxonase PON1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000; 29:390–439.
129. Paragh G, Balla P, Katona E, Seres I, Egerhazi A, Degrell I. Serum paraoxonase activity changes in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2002; 252:63-7.
130. Ferre N, Marsilach J, Camps J, Rull A, Coll B, Tous M et al. Genetic association of paraoxonase-1 polymorphisms and chronic hepatitis C virus infection. *Clinica chimica acta*. 2005; 18:112-8.
131. Min J, Park H, Park B, Kim YJ, Park J, Lee H, Ha E, Park E, Hong YC. Paraoxonase gene polymorphism and vitamin levels during pregnancy: Relationship with maternal oxidative stress and neonatal birthweights. *Reprod Toxicol*. 2006 ;22(3):418-24.
132. Clarimon J, Eerola J, Hellstrom O, Tienari PJ, Singleton A, Paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and Parkinson's disease in a Finnish population.. *Neurosci Lett* 2004; 367:168-70.
133. Paşca S.P, Nemeş B, Vlase L, Gaygi C.E, Dronca E, Miu AC et al. High levels of homocysteine and low serum paraoxonase 1 arylesterase activity in children with autism. *Life sciences* 2006; 78:2244-8.
134. Raiszadeh F, Solati M, Etemadi A, Azizi F. Serum paraoxonase activity before and after treatment of thyrotoxicosis. *Clin Endocr* 2004; 60:75–80.

135. Delgado Alves J, Ames PR, Donohue S, Stanyer L, Nourooz-Zadeh J, Ravirajan C et al. Antibodies to high-density lipoprotein and beta2-glycoprotein I are inversely correlated with paraoxonase activity in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 2002;46(10):2686-94.
136. Mackness MI, Mackness B, Arrol S, Wood G, Bhatnagar D, Durrington PN. Presence of paraoxonase in human interstitial fluid. *FEBS Letters* 1997; 416:377-80.
137. Griffith MK, Virella GT, Stevenson HC, Lopes-Virella MF. Low density lipoprotein metabolism by human macrophages activated with low density lipoprotein immune complexes. A possible mechanism of foam cell formation. *J Exp Med* 1988; 168:1041-59.
138. Szafran Z, Nowak J, Szafran H, Janik A. Esterolytic activity of blood serum in infants with hypertrophic pyloric stenosis. *J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 17:321-4.
139. Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, Staffonini DM, McIntyre TM, Prescott SM et al. Anti-inflammatory HDL becomes proinflammatory during the acute phase response. *J Clin Invest* 1995; 96:2758-67.
135. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995; 91:2488–96.
136. Costa L, Vitalone A, Cole T B, Furlong C E. Modulation paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical Pharmacology* 2004.
137. Marchesani M, Hakkarainen A, Tuomainen T P, Kaikkonen J, Pukkala E, Uimari P et al. New paraoxonase 1 polymorphism I102V and the risk of prostate cancer in finnish Men *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:812-18.
138. [www.kardiyo.net](http://www.kardiyo.net).
139. <http://hastarehberi.com/kardiyoloji/kalp3/arteriyoskleroz.htm>.
140. Naito HK :Coronary Artery Disease and Disorders of Lipid Metabolism. *Clinical Chemistry*, Editörler: Lawrence Kaplan, Amadeo J.Pesce, Steven C.Kazmierczak, Mosby, 2003;4:603-38.
141. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen derved free radicals. *Arch Surg*, 1991; 126: 104-6.
142. Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ: Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, Editörler: Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, WB Saunders Company, Philadelphia, 1999;3: 809-61.
143. Reilly Pm, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg.* 1991; 161(4): 488.

144. Linton MF, Fazio S: Macrophages, inflammation and atherosclerosis. *International Journal of Obesity* 2003;27: 35-40.
145. Lehmann CJ: Lipids and Lipoproteins. *Saunders Manual of Clinical Laboratory Science*. WB Saunders Company, 2003;1:59-76.
146. Jialal I: Evolving Lipoprotein Risk Factors: Lipoprotein(a) and oxidized lowdensity lipoproteins. *Clin Chem* 1998;44(8):1827-1832.
147. Applebaum-Bowden D.: Lipases and lecithin :cholesterol acyltransferase in the control of lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1995;6: 130-5.
148. Bhagavan NV :Plasma Lipoproteins. *Medical Biochemistry*. Harcourt Academic Press, 2002;4: 429-452.
149. Warnick GR, Knopp RH, Fitzpatrick V, Branson L: Estimating low-density lipoprotein cholesterol by the Friedewald equation is adequate on the basis of nationally recommended cutpoints. *Clin Chem*, 1990;36: 15-19.
150. Shah P.K., Kaul S., Nilsson J., Cercek B.:Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins, An idea whose time for testing is coming, Part II, *Circulation*, 2001;104:2498-2503.
151. Cohen R.D., Castellani L.W., Qiao J.H., Van-Lente B.J., Lusic A.J, Reue K. Reduced aortic lesions and elevated high density lipoprotein levels in transgenic mice overexpressing mouse apoA-IV. *J Clin Invest.*, 1997;99: 1906-1916.
152. Brewer HB, Gregg RE, Hoeg JM, Fojo SS: Apoproteins and Lipoproteins in Human Plasma: an Overview. *Clin Chem*. 1988;34(8) :4-8.
153. Musliner TA, Krauss RM: Lipoprotein Subspecies and Risk of Coronary Disease. *Clin Chem* 1988;34(8): 78-83.
154. M.I. Mackness, S.A., B. Mackness, P.N. Durrington,, "Alloenzymes of Paraoxonase and Effectiveness of High-density Lipoproteins in Protecting Low-density Lipoprotein Against Lipid Peroxidation." *Lancet* 1997;349:851-2.
155. Erdem, M.S.T.i. "ST Elevasyonlu Miyokard İnfarktusu (Stemi) Hastalarda İnsan Paraoksonase Geni Met-Leu/55 Polimorfizmi." *Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi, İstanbul* 2004.
156. Navab M, Hama-Levy S, Van Lenten BJ, Fonarow GC, Cardinez CJ, Castellani LW et al. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. *J Clin Invest* 1997; 99:2005– 19.

157. Shih DM, Xia YR, Wang XP, Miller E, Castellani LW, Subbanagounder G et al. Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol Chem.* 2000;275(23):17527-35.
158. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91:2488–96.
159. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroqul J, Sorensen R, Bisqaier CL et al. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1999;26:892–904.
160. Altan N., Dinçel A., Koca C., Diabetes Mellitus ve Oksidatif stres Türk Biyokimya Dergisi 2006; 31 (2);51-56.
161. Yanık M, Erel O, Kati M. The relationship between potency of oxidative stres and severity of depression. *Acta Neuropsychiatr.* 2004; 16: 200-3.
162. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1996; 20: 707-27.
163. Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R et al. Cigarette Smoking induces an increase in oxidative damage, 8- hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis.* 1997; 18: 1763-6.
164. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 1996; 16: 33-50.
165. Kuppusamy UR, Dharmani M, Kanthimathi MS, Indran M. Antioxidant enzyme activities of human preipheral blood mononuclear cells exposed to trace elements. *Biol Trace Elem Res.* 2005; 106: 29–40.
166. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 1819–28.
167. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993; 49: 479–80.
168. Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res.* 1994; 54(7):1969-75.
169. Southorn P, Powis G. Free radical in medecine I. Chemical nature and bidogical reactions. *J. Mayo Clin. Proc.* 1988; 63(3): 381–8.
170. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi.* 2002; 33(2): 110-8.

171. McCord JM: Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993; 26: 351–7.
172. Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids and The Oxidative Strees Study Group: Oxidative stres in chronic obstructive pulmonary disease. *J Respir Crit Care Med.* 1997; 156: 341–7.
173. Asad SF, Singh S, Ahmad A. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact.* 2001;137:59-74.
174. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res.* 1996; 25: 439-54.
175. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. A report of the panel on dietary antioxidants and related compounds, subcommittees on upper reference levels of nutrients and interpretation and uses of dietary reference intakes. Washington DC. National Academy Press. 2000; 1:1-506.
176. Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.* 1999; 37: 949-62.
177. Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health and disease. 1st ed. New York. Oxford University Press. 1994; 93: 290-3.
178. Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. *Biol Neonate.* 2001; 79: 180-6.
179. Buhimschi IA, Buhimshi CS, Pupkin M. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 189: 181-8.
180. Scandalios JG: The rise of ROS. *TRENDS in Biochemical Sciences.* 2002; 27: 483-6.
181. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza yayınları. 1995; 42-5.
182. Zhao J, Liu XJ, Ma JW. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev.* 2004; 77: 89-98.
183. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition.* 2002; 18: 872-9.
184. Rose RC, Bode AM. Biology of free-radical-scavengers- an evaluation of ascorbat. *FASEB J.* 1993; 7: 1135-42.
185. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J.* 1999; 13: 1007-24.

186. Suh J, Zhu BZ, Frei B. Ascorbate does not act as pro-oxidant toward lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med.* 2003; 34: 1306-14.
187. Notrhrop-Clewes CA, Thurnham DI. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clinica Chimica Acta.* 2007; 377: 14-38.
188. Chow CK. Vitamin C and cigarette smoke exposure. In: Packer L, Fuchs J, editors. *Vitamin C in health and disease.* New York: Marcel Dekker Inc. 1997; 4: 413-24.
189. Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan.* 2005; 74: 10-3.
190. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 1989; 119: 109-11.
191. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H: Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001; 30(5): 456–62.
192. Serafini M, Del Rio D Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Report.* 2004;9(3): 145-52.
193. Furlong C E, Li W F, Brophy VH, Jarvik G P, Richter R J, Shih DM et al: The PON1 gene and detoxication. *Neurotoxicology* 2000; 21:581-7.
194. Furlong CE, Richter RJ., Seidel S L, Motulsky AG. Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon. *Am J Hum Genet* 1998; 43:230-8.
195. Miller E, Hare JW, Cloherty JP. Elevated maternal hemoglobin A1c in early pregnancy and major congenital anomalies in infants of diabetic mothers. *N Engl J Med.* 1991; 304: 1331-4.
196. Rıza Madazlı, Abdullah Tuten, Zerrin Calay. Gestasyonel diyabetik gebeliklerde plasentaların değerlendirilmesi. *Turkiye Klinikleri Jinekoloji-Obstetrik Dergisi.* 2007; 17: 89-93.
197. Garcia-Patterson A, Erdozain L, Ginovart G. In human gestational diabetes mellitus congenital malformations are related to pre-pregnancy body mass index and to severity of diabetes. *Diabetologia* 2004; 47: 509-14.
198. Canadian Diabetes Association. Dyslipidemia in Adults With Diabetes. *Canadian Journal Of Diabetes.* 2006;30(3):230–40.
199. Dullaart RP. Plasma lipoprotein abnormalities in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Neth J Med.* 1995;46:44–54.

200. Valabhji J, McColl A-J, Schachter M, Dhanjil S, Richmond W, Elkeles RS. High density lipoprotein composition and paraoxonase activity in type 1 diabetes. *Clin Sci*. 2001;101:659–670.
201. Mackness B, Durrington P.N, Boulton A.J.M, Hine D. Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur Clin Invest* 2002; 32 (4): 259-64.
202. İlker Parmaksız, Palmet Gün Atak, Dilek Gogas Yavuz, Önder Şirikçi1Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2011; 36 (4) ; 329–33.
203. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999;32:595–603.
204. Medici F, Puder D, Williams CL. Cholesterol Screening in the Pediatric Office. *Ann NY Acad Sci*; 1991;623: 200-4.
205. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84:1381–478.
206. Aviram M. Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases. *Free Radic Res* 2000; 33:85–97.
207. Cyrus T, Yao Y, Rokach J, Tang LX, Pratico D. Vitamin E reduces progression of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice established vascular lesions. *Circulation* 2003;107:521-3.
208. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 473-80.
209. Mackness M, Durrington P, Mackness B. Paraoxonase 1 activity, concentration and genotype in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:399–404.
210. Reardon CA. Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:261–7.
211. Obata T, Ito T, Yonemura A, Ayaori M, Nakamura H, Ohsuzu F. R192Q paraoxonase gene variant is associated with a change in HDL-cholesterol level during dietary caloric restriction in nondiabetic healthy males. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:57-62.
212. Durrington PN. *Hyperlipidaemia: Diagnosis and Management*. London, UK: Wright; 1989.
213. Miller GJ, Miller NE. Plasma high density lipoprotein concentration and the development of ischaemic heart disease. *Lancet* 1975; 1:16-8.



214. Miller NE, Ville A La, Crook D. Direct evidence that reverse cholesterol transport is mediated by high-density lipoprotein in rabbit. *Nature* 1985;314:109–11.
215. McElveen J, Mackness MI, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH. Distribution of paraoxon hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem* 1986; 32: 671-3.
216. Packard Cj, Shepherd J: Trigliseridler ile koroner kalp hastalığı arasındaki bağlantının metabolik temeli. Born GVR, Schwartz CJ (Eds.). 1995;4:1-2.
217. Rhoads G.G., Gulbrandsen C.L., Kagan A.: Serum lipoproteins and coronary heart disease in a population study of Hawaii Japanese men. *N Engle J med.*, 1976;294(6):293-8.
218. Thomas-Moya E, Gianotti M, Liadino I, Proenza A.M Effects of caloric restriction and gender on rat Paraoxonase 1 activity. *J.N.Biocchemistry* 2006;17:197-203.
219. Cakmak A, Soker M, Koc A, Erel O. Paraoxonase and arylesterase activity with oxidative status in children with thalassemia major. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2009;31(8):583-7.